



Gimnazija Novo mesto



Nacionalni laboratorij za  
okolje, zdravje in hrano

**PCB OSTAJA, ZAVEDANJE POHAJA –**  
**Zavedanje pomembnosti ekoloških nesreč**  
(raziskovalna naloga s področja ekologije)

**Avtorice:**

Mirjam Ogrinc

Nuša Pangerc

Eva Šubic

**Mentorica:**

Janja Pust

**Somentorji:**

Dušan Harlander

Damjan Jan Pavlica

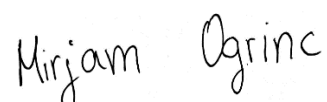
Novo mesto, junij 2020

Podpisane Mirjam Ogrinc, Nuša Pangerc in Eva Šubic, dijakinje Gimnazije Novo mesto, potrjujemo, da je raziskovalna naloga z naslovom

**PCB OSTAJA, ZAVEDANJE POHAJA – Pomembnost zavedanja ekoloških nesreč**

nastala kot rezultat lastnega raziskovalnega dela, da so rezultati korektno navedeni in pri pisanju niso bile kršene avtorske pravice in intelektualne lastnine drugih.

Mirjam Ogrinc



Nuša Pangerc



Eva Šubic



Janja Pust, univ. dipl. kem., profesorica na Gimnaziji Novo mesto

Dušan Harlander, dr. medicine, NLZOH, Oddelek za okolje in zdravje Novo mesto

Damjan Jan Pavlica, univ. dipl. inž. kem. inž., Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana

## POVZETEK

Poliklorirani bifenili so skupina spojin, ki so se v preteklosti zaradi unikatnih lastnosti uporabljali skoraj v vseh industrijah. Zaradi svoje neprevodnosti so bili privlačni predvsem v elektroindustriji. Leta 1979 so jih zaradi njihovih toksičnih lastnosti prepovedali. Kljub temu so zaradi svojega počasnega razpadanja še vedno prisotni v okolju. Ena izmed prizadetih pokrajin je slovenska Bela krajina, kjer je PCB-je v svoji proizvodnji uporabljala tovarna Iskra. Zaradi izpustov tovarne v okolje so se onesnažile reke, posledično pa so bile PCB-jem izpostavljene tudi živali.

Z našo raziskovalno nalogo smo želele preučiti trenutno stanje PCB-jev v ribah iz lokalnih rek z enako metodo, kot je bila izvedena leta 2011. Vzorci so bili iz rib ekstrahirani s heksanom in analizirani z masno spektrometrijo (GC) ter ECD detektorjem. Po primerjavi rezultatov s preteklimi smo ugotovile, da se stanje izboljšuje. Koncentracija PCB-jev v ribah je padla za več kot polovico. V vzorcu iz reke Krupe pa je bila zaznana le tretjina količine iz raziskave leta 2010. Iz rezultatov je razvidno, da se z leti prisotnost PCB-jev zmanjšuje. Ribe kljub temu še vedno niso primerne za uživanje, saj najdene vrednosti presegajo sprejemljiv tedenski vnos PCB-jev, določen v evropski zakonodaji.

V prihodnosti želimo v naše raziskovalno delo o PCB-jih uvesti novo metodo ekstrakcije vzorca QuEChERS in analize GC/MS-MS.

Ključne besede: PCB-ji, PCB-ji v ribah, ekološka katastrofa, plinska kromatografija, QuEChERS, ekstrakcija s heksanom, spremljanje PCB-jev

Ključne besede: PCB-ji, PCB-ji v ribah, ekološka katastrofa, GC-ECD, QuEChERS, ekstrakcija s heksanom, analiza PCB-jev

## ABSTRACT

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are a group of organic compounds that were in the past used almost in all industries, especially in the electrical industry, because of their unique properties, such as non-conductivity. In the year 1979, they were banned because of their toxicity. However, they are still present in many places due to their slow degradation. One of the affected areas is located in the Bela Krajina region of Slovenia, where Iskra Capacitors, the Slovenian capacitor manufacturer, used this compound in their products.

Due to improper storage of used PCBs, leakages started appearing, and the disposed PCBs found their way into the local underground waterway, which gradually made the rivers more polluted. Consequently, the toxin started accumulating in animal fats, especially in fish.

We analysed the current concentration of PCBs in fish, from Bela Krajina rivers, such as Krupa, Lahinja, and Kolpa. The samples were extracted with hexane and analysed with a gas chromatograph (GC) and an electron capture detector (ECD).

A comparison was made with the results of a 2010 research that also focused on PCBs in fish. After comparing the results, we found that the concentrations are steadily dropping. In comparison to the 2010 result, the concentration of detected PCBs in some fish has dropped by more than half. Only a third of the value from 2010 was detected in fish sampled from the Krupa River. It's evident that the presence of PCBs is gradually decreasing.

However, the fish from these rivers are not fit for consumption, since the values still exceed the tolerable weekly intake (TWI) of PCBs, which is standardized in European Legislation.

We would like to continue our research on PCBs with a new, as of yet unvalidated method of extracting samples (QuEChERS) and an analysis using a gas chromatograph with an MS-MS detector.

**Key words:** PCBs, PCBs in fish, ecological disaster, gas chromatography, QuEChERS, extraction with hexane, PCBs monitoring

## ZAHVALA

Pri nastajanju in oblikovanju raziskovalne naloge smo bile deležne številne pomoči, ki je ne moremo spregledati.

- Profesorici kemije, Janji Pust, univ. kem., se zahvaljujemo za vso požrtvovalnost, nesebično pomoč, strokovno in moralno podporo. Hvaležne smo, da nam je stala ob strani in nas spodbujala, da nalogo izpeljemo kljub nepričakovanim zapletom in pandemiji. Hvala, ker je zaupala v nas.
- Dušanu Harlandru, dr. med., spec., ki nam je omogočil izvajanje raziskovalnega dela v laboratorijih NLZOH-a, se zahvaljujemo za vse posredovano znanje, gradivo in čas, ki nam ga je posvetil. Hvala za sodelovanje in bogate izkušnje, ki jih je velikodušno delili z nami.
- Zahvala gre tudi celotnemu laboratorijskemu timu NLZOH in vodji univ. dipl. kem. Maji Križan. Še posebej velika zahvala Juretu Jakšetju, ki nas je vedno dobrovoljno usmerjal pri laboratorijskem delu.
- Hvala Janu Damjanu Pavlici, univ. dipl. inž. kem. inž., da nam je omogočil laboratorijsko delo v laboratorijih FKTT-ja in nam pri tem pomagal. Hvala za vedno nove ideje in velik nasmeh.
- Zdenki Držaj in Dušanu Komelu se zahvaljujemo za pomoč in nasvete pri delu na FKTT-ju.
- Zahvaljujemo se tudi profesorjem Gimnazije Novo mesto:
  - Suzani Krvavica, prof. slovenščine, za lekturo raziskovalne naloge in povzetka,
  - Janezu Gorencu, prof. angleščine, za lekturo povzetka v angleškem jeziku,
  - mag. Branki Klemenčič, univ. dipl. inž. kem. inž., in Tanji Gačnik, mag. funk. biol., za predstavitev poteka raziskovalnega dela in svetovanje,
  - razredniku Vanji Popovu prof. matematike, za opravičene izostanke.

## KAZALO VSEBINE

POVZETEK.....	2
ABSTRACT.....	2
ZAHVALA.....	4
KAZALO SLIK.....	7
KAZALO TABEL.....	7
1 UVOD.....	8
2 TEORETIČNI DEL.....	9
2.1 Opis polikloriranih bifenilov (PCB-jev).....	9
2.2 Zgodovina PCB-jev.....	11
2.2.1 Aroklor.....	11
2.2.2 Prisotnost v mediteranskem morju.....	13
2.3 Izpostavljenost ljudi.....	13
2.3.1 Škodljivost PCB-jev.....	14
2.3.1.1 Kancerogenost.....	14
2.3.1.2 Vplivi na živčni sistem.....	14
2.3.1.3 Vplivi na reprodukcijo.....	15
2.3.1.4 Vplivi na imunski sistem.....	15
2.3.1.5 Toksičnost.....	16
2.4 Ekološka nevarnost.....	17
2.5 PCB-ji v Beli krajini.....	18
2.5.1 Zgodovina tovarne Iskra.....	18
2.5.2 Kondenzator.....	18
2.5.3 Občina Semič.....	18
2.5.4 Reke, prizadete zaradi izpustov PCB-jev v naravo.....	18
2.5.5 Potek onesnaženja vodnega zaledja Krupe.....	19
2.5.6 Pretekle raziskave prisotnosti PCB-jev v Beli krajini.....	19
2.5.7 Izpostavljenost ljudi v Beli krajini.....	21
2.6 Plinska kromatografija (GC).....	21
2.6.1 GC-detektorji.....	22
2.6.2 ECD-detektor.....	22
3 NAMEN DELA.....	23

3.1	CILJI.....	23
3.2	HIPOTEZE .....	23
4	MATERIALI .....	24
4.1	Laboratorijski pribor in oprema.....	24
4.2	Aparatura za analizo.....	24
4.3	Kemikalije in uporabljene snovi .....	24
5	METODE DELA .....	25
5.1	Odvzem vzorcev - ribolov.....	25
5.2	Priprava raztopin standarda za analizo GC-ECD .....	26
5.3	Priprava raztopin vzorcev za analizo GC-ECD.....	26
5.3.1	Ekstrakcija vzorca iz rib .....	27
5.3.2	Spiranje.....	27
5.3.3	Čiščenje ekstrakta z žveplovo kislino.....	27
5.3.4	Koncentriranje in čiščenje na koloni .....	28
5.4	Priprava slepih raztopin vzorcev ter raztopin vzorcev s standardnim dodatkom za analizo GC-ECD .....	30
5.5	Priprava umeritvene premice.....	30
5.6	Priprava raztopin za analizo na GC-ECD.....	30
5.7	Analiza z GC-ECD.....	30
6	REZULTATI IN INTERPRETACIJA .....	31
6.1	Analiza standardov .....	31
6.2	Analiza slepih vzorcev .....	31
6.3	Analiza vzorcev.....	32
6.3.1	Rezultati vzorcev ribe platnice iz Lahinje .....	33
6.3.2	Analiza vzorcev ribe iz reke Krupe .....	34
6.4	Časovna primerjava koncentracij skupnih PCB-jev .....	35
6.5	Časovna primerjava toksičnega ekvivalenta (TEKV) za PCB 118.....	36
7	RAZPRAVA .....	37
8	ZAKLJUČEK .....	39
9	VIRI .....	40
10	PRILOGE .....	44

## KAZALO SLIK

Slika 1: Skeletna formula PCB-jev (WHO, 2016).....	9
Slika 2: TCDD, prirejeno po (TCAS).....	10
Slika 3: Standardna sestava štirih Aroklorov (Shields, in drugi, 2015) .....	12
Slika 4: Strukturna formula dioksina TCDD (Kapp, 2014).....	16
Slika 5: Shema plinskega kromatografa (GC), prirejeno po (Deepak, 2013) .....	22
Slika 6: Mesta odvzema vzorcev .....	25
Slika 7: Utrinki z ribolova (osebni arhiv).....	25
Slika 8: Vzorci pripravljene za ekstrakcijo (osebni arhiv) .....	27
Slika 9: Čiščenje z žveplovo kislino (osebni arhiv) .....	28
Slika 10: Čiščenje na adsorpcijski koloni (osebni arhiv) .....	29
Slika 11: Primer kromatogram raztopine vzorca s prevelikimi koncentracijami PCB-jev.....	32
Slika 12: Primer kromatogrami raztopine vzorcev z ustreznimi koncentracijami PCB-jev .....	32
Slika 13: Kromatogram raztopine vzorca (Lahinja) .....	33
Slika 14: Kromatogram raztopine vzorca (Krupa).....	34

## KAZALO TABEL

Tabela 1: Povezava med poimenovanjem po sistemu IUPAC in BZ (WHO, 2003) .....	9
Tabela 2: Vrednosti faktorjev toksične ekvivalence (TEF) za posamezne PCB-je (UREDBA KOMISIJE (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih, 2006).....	17
Tabela 3: Opisi ulovljenih rib.....	26
Tabela 4: Izkoristki standardov posameznih PCB-jev .....	31
Tabela 5: Analiza slepih vzorcev na prisotnost PCB-jev .....	32
Tabela 6: Posamični ter povprečni rezultati posameznih PCB-jev v vzorcih rib in izračun RSD za reko Lahinjo .....	34
Tabela 7: Rezultati in izračun RSD za reko Krupo.....	35
Tabela 8: Časovna primerjava skupnih PCB-jev v Krupi in Lahinji .....	36
Tabela 9: Primerjava TEKV v letu 2010 in 2020.....	36



## 1 UVOD

Leta 1962, ko so v tovarni Iskra v Semiču pričeli z uporabo PCB-jev v proizvodnji kondenzatorjev, se nihče ni zavedal, kakšno okoljsko katastrofo bodo ti povzročili. Raziskava, izvedena leta 1983, je prvič pokazala obsežnost onesnaženja. Reka Krupa, ki je bila lokalnemu prebivalstvu vir vode in ribolovni prostor, je čez noč obveljala za najbolj onesnaženo reko s PCB-ji v Evropi. Lokalno prebivalstvo je moralo sprejeti številne spremembe, ki so bile potrebne za njihovo varnost. Kljub vsem ukrepom pa je bilo jasno, da si neokrnjena narava v okolici Semiča še dolgo ne bo opomogla.

Seveda nam je bil ta del zgodovine, ki je pravzaprav tudi *sedanjost*, na začetku povsem tuj. Nato smo se nekega dne, željne raziskovalnega dela, zapletle v pogovor z Janom Pavlico (Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana). Omenil je ekološko nesrečo s PCB-ji v Beli krajini in tišino, ki je nastopila kmalu za tem. Tišina, ki, kot lahko sedaj z rezultati analiz potrdimo, ne bi smela nastati.

PCB-ji so še vedno prisotni. Prisotni so v ribah, sedimentu, verjetno v nizkih vrednostih tudi v jajcih, mesu in mleku, proizvedenih na območjih v bližini izvira reke Krupe, kjer so bili PCB-ji neprimerno shranjeni. Iz rezultatov je sicer razvidno, da vrednosti PCB-ja v ribah padajo, čeprav še vedno presegajo dovoljene vrednosti tedenskega vnosa. Ne glede na to, da PCB-ji počasi izganjajo iz narave, za sabo puščajo zgodbo. Zgodbo, ki je ne smemo pozabiti.

Morda se ravno v tem trenutku, prav pred našimi očmi dogaja nekaj primerljivega. Zločin proti naravi, ki se ga še ne zavedamo ali pa ga že slutimo, a kljub temu ostajamo malodušni.

Ves čas smo na preizkušnji. Vsak dan smo postavljeni pred izbiro: zamižati na eno oko ali na široko odpreti še drugega.

S svojim raziskovalnim delom tako želimo sporočiti prav to, kako pomembno je, da se vsak dan v svet odpravimo z odprtimi očmi. Z zavedanjem napak iz preteklosti in skrbjo za prihodnost. Živimo v svetu, ki ga ustvarjamo.

Naša pot nas je tako pripeljala do doktorja medicine Dušana Harlandra, ki je v preteklosti že izvedel dve raziskavi s področja PCB-jev. Seznanil nas je s kompleksnostjo problema PCB-jev v preteklosti in z nami delil ne samo praktičnih informacij, kako raziskavo izvesti, ampak tudi svoje spomine, občutja, življenjske zgodbe domačinov, s katerimi je takrat sodeloval.

Že na samem začetku smo vedele, da želimo opraviti raziskovalno delo iz ekologije, ko smo se srečale s to zgodbo, pa smo vedele, da jo želimo podrobneje raziskati in jo približati tudi drugim.

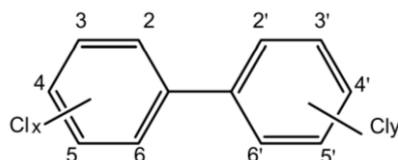
Tako je pred vami raziskovalna naloga, ena od prvih vrhov na tej dolgi, nič kaj položni, a čudoviti poti. Hvaležne smo za prvi razgled, ki ga imamo, in za ljudi, ki so z nami prehodili večje ali manjše dele poti.

Vesele smo, da je pot sedaj zavila tudi k vam, spoštovanemu bralcu/ki, in upamo, da bo pustila pečat tudi na vas.

## 2 TEORETIČNI DEL

### 2.1 Opis polikloriranih bifenilov (PCB-jev)

Poliklorirani bifenili oz. PCB-ji so skupina 209 organskih sorodnih spojin (ang. congeners), zgrajenih iz dveh benzenovih obročev, na katere je vezano različno število, od 1 do 10, klorovih atomov. Njihova splošna formula je  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$  (Robertson & Hansen, 2001).



Slika 1: Skeletna formula PCB-jev (WHO, 2016)

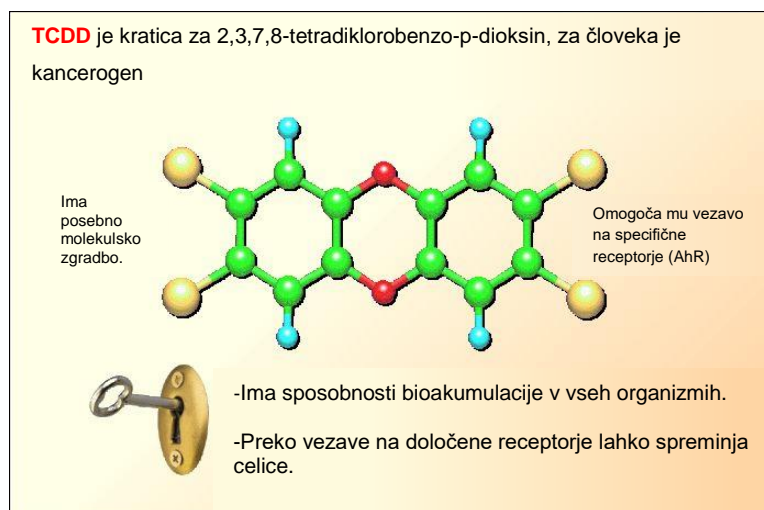
Poimenujemo jih lahko na dva načina: po IUPAC-u ali po sistemu, ki sta ga razvila Ballschmitter in Zell (sistem BZ) leta 1980, ki vsakemu PCB-ju pripiše določeno številko.

Tabela 1: Povezava med poimenovanjem po sistemu IUPAC in BZ (WHO, 2003)

Položaj klora na obročih	Brez Cl	2	3	4	23	24	25	26	34	35	234	235	236	245	246	345	2345	2346	2356	23456							
23456																					209						
2356																					202	208					
2346																					197	201	207				
2345																					194	196	199	206			
345																169	189	191	193				205				
246																155	168	182	184	188			204				
245																153	154	167	180	183	187		203				
236																136	149	150	164	174	176	179	200				
235																	133	135	146	148	162	172	175	178	198		
234																		128	130	132	138	140	157	170	171	177	195
35																											
34																											
26																											
25																											
24																											
23																											
4																											
3																											
2																											
Brez Cl	0	1	2	3	5	7	9	10	12	14	21	23	24	29	30	38	61	62	65								

Z osenčenim delom je nakazan primer poimenovanja. PCB 156 po IUPAC nomenklaturi poimenujemo 2,3,3',4,4',5-heksaklorobifenil.

Lahko jih razdelimo v dve širši skupini glede na to, kako podobni so dioksinom po tridimenzionalni zgradbi in posledično po njihovi afiniteti do citoplazmatskega receptorja aril hidrokarbon receptor (ang. Aryl hydrocarbon Receptor, Ah receptor) (Schettler, Solomon, Valenti in Huddle, 1999). Bolj kot so podobni 2, 3, 7, 8-tetraklorodibenzo-p-dioksinu (TCDD), večji vpliv imajo na telo (poglavje 2.3.1.5).



Slika 2: TCDD, prirejeno po (TCAS)

PCB-ji, ki so strukturno podobni dioksinom (ang. dioxin-like, krajše DL), so PCB 77, PCB 81, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 126, PCB 156, PCB 157, PCB 167, PCB 169 in PCB 189. Vsi so koplanarni, kar pomeni, da oba benzenova obroča ležita na isti ravnini. Ti PCB-ji imajo zmerno do visoko afiniteto do vezave na Ah receptorjev. PCB-ji, ki so strukturno različne molekule od dioksinov, oz. nimajo koplanarne strukture (ang. non-dioxine-like, krajše NDL) imajo zanemarljivo oz. ničelno sposobnost vezave na Ah receptor (Pessah, Cherednichenko, & Lein, 2010). Do razlike v strukturi PCB-jev pride zaradi obračanja benzenovih obročev okoli vezi, ki ju povezuje. Za vrtenje je odgovoren elektrostatičen odboj med visoko elektronegativnimi klorovimi atomi, ki potisnejo obroča proti enaki oz. različnima ravninama. Med koplanarne PCB-je uvrščamo tiste, ki na *orto* položajih (mesta 2 in 2' ter 6 in 6') (Slika 1) nimajo klorovih atomov (npr. PCB 77, 81, 126 in 169), in nekateri, ki imajo na *orto* položajih le en klor oz. so *mono-orto* substituirani (npr. PCB 105, 114, 118 in 123) (Tabela 1). To nakazuje na sposobnost, da se obroči okoli vezi lahko zasukajo, a ne obrnejo popolnoma (WHO, 2016). Nekoplanarna orientacija je torej posledica substitucije vodika s klorom na *orto* položaju.

Število in položaj klorovih atomov na obroču vplivata na mnoge fizikalne in kemijske lastnosti spojin. Lahko so trdne, voskaste snovi ali pa goste, olju podobne tekočine. So brez vonja in okusa. Manj gosti, tekoči PCB-ji so rahlo rumene barve, medtem ko so trši, voskasti, PCB-ji črnkasti. Imajo visoko vrelišče, so kemijsko stabilni in dobri električni izolatorji (US Environmental Protection Agency, 2017). Odporni so tudi proti bazam, kislinam in visokim temperaturam. Pri izredno visokih temperaturah so PCB-ji vnetljivi, produkti njihovega gorenja pa še bolj strupeni

in nevarni kot spojina sama. Med gorenjem PCB-jev lahko pride do nastanka vodikovega klorida in polikloriranih dibenzofuranov (PCDF-ji). PCB-ji so izrazito nepolarni, ne ionizirajo in so hidrofobni. Značilno se kopičijo predvsem v maščobnih tkivih (WHO, 2003).

Zaradi nereaktivnosti se v okolju težko razgradijo. Večje ko je število klorovih atomov v molekuli PCB-ja, težje se bo ta v okolju razgradila. V raziskavi razgradnje komercialne mešanice, ki vsebuje 40 % PCB-jev, Delor 103 (vsebuje PCB 8, PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB 138, PCB 153, PCB 180), je bilo ugotovljeno, da je razgradnja PCB-jev možna s pomočjo ligninolitičnih gliv, med katerimi je bila najuspešnejša *Pleurotus ostreatus* (bukov ostrigar). Med osmimi preizkušenimi glivami je bila ta edina sposobna razgradnje PCB-jev s petimi in šestimi klorovimi atomi (Čvančarová, Křesinová, Filipová, Covino in Cajthaml, 2012). Razgradnja iste mešanice v drugi raziskavi je pokazala, da je PCB-je možno razgraditi z naslednjimi bakterijskimi kulturami: *Alcaligenes latus*, *Alcaligenes eutrophus*, *Comamonas testosteroni*, *Micrococcus varians* in *Pseudomonas putida* (Dercova idr., 1993).

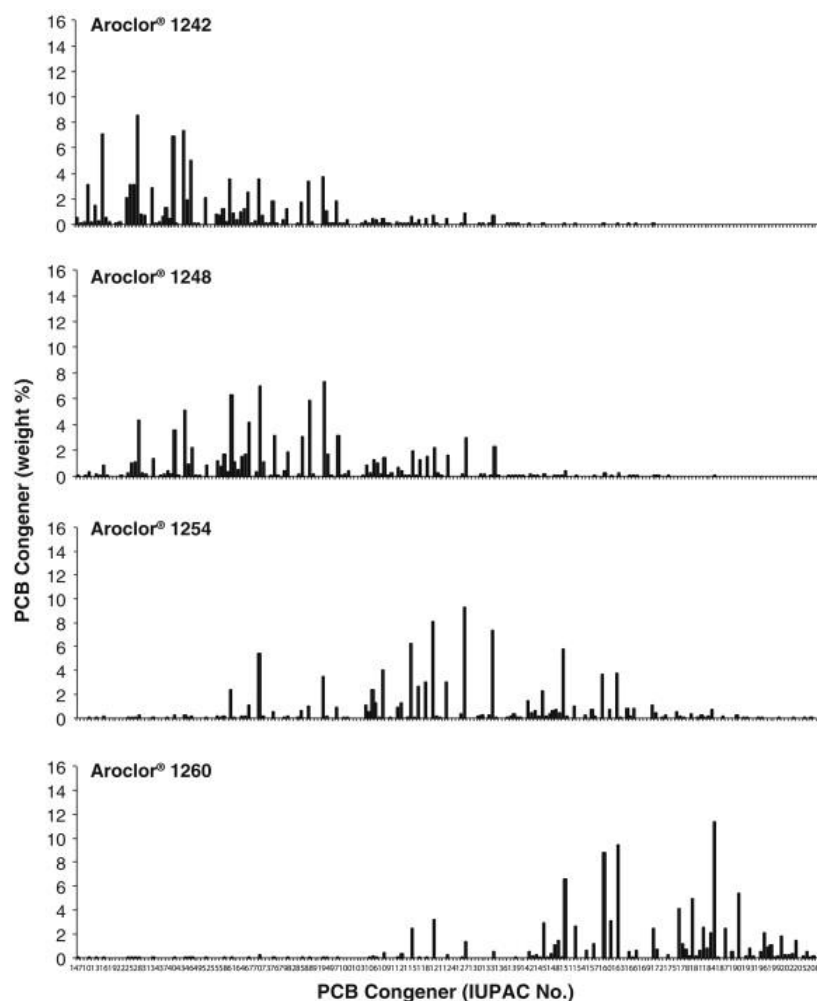
## 2.2 Zgodovina PCB-jev

Svetovna raba PCB-jev se je začela leta 1929 in je trajala vse do leta 1979, ko so ZDA prepovedale uporabo le-teh. Samo v Ameriki so v tem časovnem obdobju izdelali okoli 6,8 milijona ton PCB-jev (NOAA, 2018). Zaradi fizikalnih in kemijskih lastnosti se je njihova uporaba v industriji hitro razširila. Najpogosteje so bili uporabljeni kot toplotno izmenjevalne tekočine v električnih transformatorjih in kondenzatorjih. Najdemo jih tudi v hidravličnih pripomočkih, samokopirnem papirju in kot dodatke v oljnih barvah, lepilih in lepilnih trakovih, plastiki in radirkah, v katerih so delovali kot mehčalci.

Od leta 1929 do 1976 so v Združenih državah Amerike proizvajali in tržili PCB-je pod blagovno znamko Monsanto Chemical Corporation. Prodajno industrijsko mešanico poznamo pod imenom Aroklor (ang. Aroclor).

### 2.2.1 Aroklor

Aroklor so proizvajali z uvajanjem hlapnega klora v bifenil, dokler ni bil dosežen zeleni masni odstotek klora. Ta postopek je omogočil proizvodnjo Aroklorov z različnimi stopnjami kloriranja. Primeri prodajnih mešanic PCB-jev so bili: Aroklor 1242, 1248, 1254 in 1260. Specifični Aroklori so imeli štirimestno referenčno številko (npr. Aroklor 1242, 1248, 1254 in 1260), ki kaže velikost molekule in masni odstotek klora v formulaciji. Na primer, Aroklor 1242 je tako imenovan, ker ima molekula PCB 12 ogljikov (vsa oglišča obeh fenilnih obročev) in je sestavljena iz mešanice tipov PCB-ja, tako da masa klora predstavlja 42 %. Edina izjema od konvencije o poimenovanju je Aroklor je 1016, ki je bila dejansko podobna sestavi Aroklor 1242, z deležem klora 41,5 % (Shields idr. 2015).



Slika 3: Standardna sestava štirih Aroklorov (Shields, in drugi, 2015)

Na sliki 3 so prikazane nekatere standardne mešanice Aroklorov. Na y-osi je prikazan masni odstotek posameznega tipa PCB-ja v mešanici določenega Aroklora, na x-osi so zapisani izomeri PCB-jev, razvrščeni v naraščajočem vrstnem redu po poimenovanju s številko (BZ sistem, Tabela 1). "Lažji" izomeri PCB-jev na levi strani so manj klorirani, "težji" na desni pa bolj klorirani. Na primer, izdelek Aroklor 1260 vsebuje predvsem "težje" izomere PCB-jev.

Iz slike je razvidno, da noben Aroklor ne vsebuje vseh 209 izomerov PCB-jev. Nekateri izomeri s klorovimi substitucijami na poziciji 3 in 5 so namreč manj stabilni in se med proizvodnim postopkom preoblikujejo v druge izomere PCB-jev (Shields idr. 2015).

Vsebnost posameznih PCB-jev v izdelkih Aroklor ni bila konstantna, saj so njegove lastnosti temeljile le na masnem deležu klora v končni mešanici in ne na posameznih izomerih PCB-jev. Tako sta imela lahko dva Aroklora 1260 iz ločenih serij izdelave, različne izomere PCB-jev, v drugačnih deležih, kar zaplete raziskovanje in določanje toksičnosti PCB-jev za človeka.

Posamezni izomeri PCB-jev iz mešanic Aroklora se v okolju spreminjajo zaradi procesov biorazgradnje, akumulacije in preperavanja. Dogajajo se razgradnje, dekloriranje in cepitve, posledično se vzorci iz okolja v primerjavi s standardi določenega Aroklora lahko močno

razlikujejo. V vzorcih iz okolja so, zaradi prej omenjenih procesov, našli tudi PCB-je, ki niso bili prisotni v nobeni mešanici Aroklora.

Zaradi vsega omenjenega so raziskave o toksičnosti in vplivih PCB-ja, ki so potekale okoli leta 1990, precej netočne, saj so te raziskovale toksičnost trgovskih mešanic in ne posameznih tipov PCB-ja, kot je to značilno za današnje raziskave (Nriagu J. O., 2011).

### 2.2.2 Prisotnost v mediteranskem morju

Zadnja raziskava je bila opravljena spomladi leta 2017. Predmet raziskovanja so bile tri vrste jedilnih rib - sardina (lat. *Sardina pilchardus*), inčun (lat. *Engraulis encrasicolus*) in bukva (lat. *Boops boops*), ulovljene v Tirenskem morju. Preverjena je bila prisotnost 18 izomerov PCB-jev, ki so bili zaznani v koncentracijah med 1,01 in 17,9 ng/g mokre mase. Najvišje koncentracije so bile zaznane v sardinah, s povprečno vrednostjo 9,88 ng/g mokre mase. Stopnja kontaminacije je bila v tem letu sicer nižja, kot v obdobju med 1990 in začetkom 21. stoletja in so vse izmerjene vrednosti še v mejah, ki jih je postavil WHO, in so primerne za uživanje (Bartlini idr., 2020).

### 2.3 Izpostavljenost ljudi

Veliko ljudi je bilo PCB-jem izpostavljeno pri uživanju kontaminirane hrane. Primer tega je bila leta 1968 uporaba s PCB-ji kontaminiranega riževega olja na Japonskem in leta 1979 na Tajvanu. Povzročil je pigmentacijo nohtov in otekanje vek skupaj z utrujenostjo, slabostjo in bruhanjem. Zaradi obstojnosti PCB-jev v materinem telesu so se pokazale tudi številne okvare na plodu (npr. upočasnen razvoj in vedenjske težave pri otrocih, ki so bili rojeni tudi do sedem let po nesreči). Do podobnih zaključkov so prišli tudi pri raziskavi otrok mater, ki so živele v bližini jezera Michigan in so uživale veliko rib s prekomerno vrednostjo PCB-jev. Pri otrocih le-teh so opazili predvsem slabše delovanje kratkoročnega spomina (Stockholm convention).

Danes lahko PCB-je najdemo praktično na vseh odlagališčih. Nevarnost še vedno predstavljajo popravila starejših električnih pripomočkov, kjer lahko človek v procesu razstavljanja, popraviljanja ali odlaganja pride v stik z njimi. V okolje lahko vstopijo tudi preko nenamernih razlitij in emisij, ki nastanejo med segrevanjem samih PCB-jev. Med pomembnejše vire onesnaženja s PCB-ji lahko uvrstimo tudi podiranje starejših stavb, saj so na in v njih uporabljene barve s temi spojinami (FAO, 2006).

Proizvodnja in raba PCB-jev je danes v mnogih državah prepovedana oz. strogo regulirana. Proizvajanje in rabo so na Švedskem prepovedali leta 1972, na Norveškem leta 1980, na Finskem 1985, eno leto kasneje pa še na Danskem (WHO, 2003). V Republiki Sloveniji je bila njihovo rabo v proizvodnji prepovedal Republiški sanitarni inšpektorat (Jan, Zupančič-Kralj in Žigon, 1994).

Kljub njihovi dokazani toksičnosti se še vedno uporabljajo v nekaterih manj razvitih državah (WHO, 2003).

### 2.3.1 Škodljivost PCB-jev

Škodljivost PCB-jev je odvisna predvsem od tega, koliko PCB-jev in sorodnih spojin je oseba zaužila in kako toksične so bile te spojine (WHO, 2003). Negativne učinke PCB-ja na zdravje delimo na kancerogene in nekancerogene. Poleg tega, da so lahko vzrok ali promotor raka, negativno vplivajo na živčni in imunski sistem ter reprodukcijo ljudi in živali. Negativni vplivi PCB-ja na zdravje so običajno rezultat dolgoročne kronične izpostavljenosti.

PCB-ji so lahko prisotni v vodi, zraku in zemlji, vendar jih zaznamo v največjih koncentracijah v sedimentu in tkivih organizmov. Pogosto jih lahko najdemo v mlečnih izdelkih in govedini ter tudi v zelenjavi (Nriagu J. O., 2011).

#### 2.3.1.1 Kancerogenost

Kancerogenost PCB-jev je bila raziskovana v retrospektivnih raziskavah, pri katerih so preučevali delavce, izpostavljene višjim vrednostim PCB-ja. Najdena je bila povezava med višjo vrednostjo PCB-ja v maščobnih tkivih ali serumu, ki so ga prejemale laboratorijske živali, in pojavnostjo raka na jetrih, sistemu žolčnih vodov, črevesju in koži (predvsem melanoma). Trdna zveza med PCB-ji in ostalimi vrstami raka, vključno z rakom na limfnem sistemu, prsni in možganih, ni bila najdena, čeprav so preliminarne indikacije nakazovale na višjo pojavnost raka na prsih (Nriagu J. O., 2011).

Tudi vse študije na živalih (večina jih je bila izvedenih s trgovskimi mešanici Aroklora) potrjujejo zvezo med rakom na jetrih in PCB-ji, kljub temu je malo dokazov, da so PCB-ji direktno toksični za genom, oziroma da poškodujejo DNK ali povzročajo mutacije. Zaradi navedenega so mnenja glede PCB-jev v povezavi z nastankom in razvojem raka deljena. Mnogi menijo, da PCB-ji niso direktni vzrok za nastanek raka na jetrih, pač pa samo krepijo razvoj tumorja (Nriagu J. O., 2011).

Leta 1994 je bila izpeljana tudi raziskava na živalih, ki je podprla to hipotezo. Potekala je na živalih, ki so bile v perinatalnem obdobju (obdobje od 22. tedna prenatalnega življenja do 7. dneva po rojstvu) kontaminirane s kancerogenimi nitrozamini ali PCB-ji. Dokazano je bilo, da se je pojavnost raka na jetrih in pljučih dvignila pri živalih, ki so bile kontaminirane z nitrozaminom in večkratnimi dozami PCB-ja (Nriagu J. O., 2011).

#### 2.3.1.2 Vplivi na živčni sistem

PCB-ji vplivajo na kognitivni razvoj otroka. Pri otrocih, ki so bili PCB-jem izpostavljeni v zgodnji fazi razvoja, ali pa so bile s PCB-ji v stiku njihove matere, lahko pričakujemo manjšo sposobnost učenja kot tudi druge vplive na zdravje v vseh življenjskih obdobjih (Nriagu J. O., 2011).

Učinki PCB-jev so bili v največji meri raziskovani na novorojenih opicah in na nekaterih drugih živalskih vrstah. Pri novorojenih opicah, katerih matere so bile izpostavljene PCB-jem, so bile opazne napake v nevrološkem razvoju.



Novorojene opice so imele težave z vidnim prepoznavanjem, kratkoročnim spominom, imele so manjšo sposobnost učenja. Za kontaminacijo opic so uporabili PCB-je, ki so bili pogosto najdeni v človeškem mleku. Epidemiološke raziskave, izvedene na novorojenčkih in otrocih, so pokazale podobne izsledke (Nriagu J. O., 2011).

Epidemiološke raziskave so bile opravljene v Evropi (Nemčija, Nizozemska, Ferski otoki), Aziji (Tajvan, Yu-Cheng), Ameriki (Michigan, Oswego, Severna Karolina, Inuit, New Bedford Harbor) in Afriki (Sejšeli).

Pri raziskovanju vpliva PCB-jev na otroke, ki so jih prejeli preko popkovine, posteljice, materine sluzi, materinega mleka ali zaužitja rib (v prisotnosti enega ali več dejavnikov), so uporabljali priznane psihološke teste, ki ocenjujejo otrokov razvoj, inteligenco in sposobnosti. Testi, ki so jih uporabili so, Bayley Scales of Infant Development, Fagan Test of Infant Intelligence in McCarthy's Scales of Children's Abilities (Nriagu J. O., 2011).

Izsledki raziskav iz različnih krajev si niso povsem enotni. Kot primer lahko vzamemo IQ-test. Testirani otroci z območja Michigana so dosegali nižje rezultate od povprečnih, v New Bedford Harborju pa med PCB-ji in rezultati IQ-testov niso našli povezave.

Neenotnost bi lahko pojasnili s tem, da otroci niso bili izpostavljeni istim izomerom PCB-jev. V Michiganu je šlo za mešanico Aroklora (z neenotno sestavo PCB-jev), v New Bedfordu pa za izpostavljenost PCB-jem nasploh (Nriagu J. O., 2011).

### **2.3.1.3 Vplivi na reprodukcijo**

Vplivi PCB-jev na reprodukcijo so bili v veliki meri raziskani na laboratorijskih poskusih na opicah vrste *Macaca mulatta*, podganah, miših in norkah. Pri raziskavah z opicami so bili opaženi naslednji resni vplivi: manjša porodna teža, manjše število zanositev in manjše število živih rojstev. Pri podganah so opazili tudi manjši proizvod sperme.

Epidemioloških raziskav na tem področju je manj. Bila pa je opažena manjša porodna teža in krajša nosečnost pri ženskah, ki so bile na svojem delovnem mestu v stiku s PCB-ji (Nriagu J. O., 2011).

### **2.3.1.4 Vplivi na imunski sistem**

Raziskave so bile narejene na opicah *Macaca mulatta*, katerih imunski sistem je izjemno podoben človeškemu. Raziskave so razkrile mnoge resne spremembe na imunskem sistemu v povezavi s PCB-ji. Med drugim je bil priželjc opazno zmanjšan, pri novorojenih opicah je bil odziv imunskega sistema na ovčje eritrocite (standardni test, s katerim določimo zmožnost izgradnje primarnih protiteles in razvoj imunosti) reduciran, zmanjšana je bila tudi odpornost na Epstein-Barr virus in druge infekcije (Nriagu J. O., 2011).

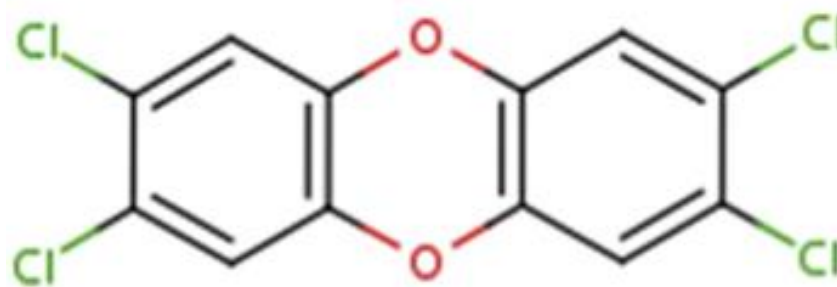
Pred kratkim je študija na ljudeh, okuženih z Epstein-Barr virusom, ugotovila, da gre v povprečju za posameznike, ki so imeli večjo asociacijo s PCB-ji. Imeli so tudi večje tveganje za razvoj raka



na limfnem sistemu kot ljudje brez Epstein-Barr virusa, kar tudi kaže na povezavo šibkega imunskega sistema in kontaminacijo s PCB-ji (Nriagu J. O., 2011).

### 2.3.1.5 Toksičnost

Najbolj toksični so PCB-ji, ki so strukturno podobni dioksinom, še najbolj tisti, ki nimajo klorovih atomov na *orto* položajih (Poglavje 2.1). Ti imajo podobno strukturo kot TCDD, ki je najbolj toksičen dioksin (Slika 4). Toksični so tudi mono-*orto* substituirani PCB-ji (en klorov atom na mestu *orto*).



Slika 4: Strukturna formula dioksina TCDD (Kapp, 2014)

Ugotovljeni so bili trije različni mehanizmi kancerogenega delovanja PCB-jev in sicer: (i) reverzibilna vezava posameznega PCB-ja s specifičnimi mesti molekularnega delovanja, (ii) ireverzibilna kovalentna vezava med posameznimi izomeri PCB-ja in tarčnimi molekulami, vključno z DNA in beljakovinami, ter (iii) akumulacija visoko maščobotopnih in metabolično stabilnih PCB-jev v maščobnem tkivu. Zaradi prvega načina delovanja štejemo določene tipe PCB-jev tudi med morebitne endokrine motilce (Nriagu J. O., 2011).

Mehanizmi delovanja PCB-jev brez klora na *orto* mestu in mono-*orto* substituirani, podobno kot pri dioksinih, vključujejo vezavo ali aktivacijo Ah receptorja. Skladno z delovanjem na Ah receptor se je za ocenjevanje toksičnosti različnih tipov dioksinov, kot tudi furanov in PCB-jev razvila lestvica TEF (ang. toxic equivalency factor) (Nriagu J. O., 2011). Ta omogoča razvrščanje toksičnosti dioksinov in njim podobnih spojin z dodeljenimi vrednostmi od 0 do 1 (Tabela 2). Pri tem je vrednost 1 dodeljena najbolj toksičnemu dioksinu TCDD. Lestvica je bila razvita po obsežnih raziskavah, kjer so upoštevali oceno nevarnosti in možnosti regulacije toksinov (Tuomisto, 2019). Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) je leta 1997 izdala preglednico TEF z oceno tveganja za ljudi, ki jo vključuje Uredba Evropske komisije (ES) iz leta 2006. Ta tudi določa še sprejemljive toksične ekvivalente (TEKV ali ang. TEQ) v pg/g živila, ki jih izračunamo tako, da koncentracije toksičnih dioksinov pomnožimo z vrednostjo TEF (UREDBA KOMISIJE (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih, 2006).

Tabela 2: Vrednosti faktorjev toksične ekvivalence (TEF) za posamezne PCB-je (UREDBA KOMISIJE (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih, 2006)

Sorodna spojina	Vrednost TEF
<b>Dibenzo-p-dioksini</b>	
TCDD	1
<b>dioksinom podobni PCB-ji (ne-orto)</b>	
PCB 77	0,0001
PCB 81	0,0001
PCB 126	0,1
PCB 169	0,01
<b>dioksinom podobni PCB-ji (mono-orto)</b>	
PCB 105	0,0001
PCB 114	0,0005
PCB 118	0,0001
PCB 123	0,0001
PCB 156	0,0005
PCB 157	0,0005
PCB 167	0,00001
PCB 189	0,0001

Opazimo da ima najvišji faktor TEF izomer PCB 126. Vrednost 0,1 pomeni, da je desetkrat manj toksičen od TCDD. PCB 118, ki smo ga določali pri naši analizi, ima TEF 0,0001 in je 10.000-krat manj toksičen od TCDD.

## 2.4 Ekološka nevarnost

V vodi so PCB-ji sicer slabo topni, vendar pa se lahko adsorbirajo na suspendirane organske in mineralne delce snovi v vodi. S prenosom po zraku in nabiranjem v vodi vstopijo v prehranjevalno verigo vodnih in kopenskih živali ter se pričnejo kopičiti v njihovih tkivih. V ribah se nabirajo predvsem v maščobnih tkivih in jetrih (FAO, 2006).

PCB-ji so zaradi svoje visoke toksičnosti, lipofilnosti in nerazgradljivosti uvrščeni tudi med POP-se (ang. Persistent Organic Pollutants, sl. dolgotrajni organski onesnaževalci), kamor so uvrščene snovi z negativnim vplivom na človeka in naravne ekosisteme. Njihovo rabo omejuje Stockholmska konvencija (ang. Stockholm Convention), kjer so bili kot ena izmed prvotnih dvanajstih prepovedanih snovi uvrščeni pod kategorijo industrijskih kemikalij.

PCB-ji so toksični za mnoge živali, med katerimi so v ospredju ribe. V manjših odmerkih povzročajo napake v reprodukciji. Dokazano je bilo tudi, da zavirajo imunski sistem nork (kuni podobna, ob vodi živeča žival) in tjulnjev (Stockholm convention).

## 2.5 PCB-ji v Beli krajini

### 2.5.1 Zgodovina tovarne Iskra

Tovarna Iskra je bila ustanovljena leta 1944. V Starih Žagah pri Črmošnjicah so organizirali delavnice, katerih naloga je bila vzdrževanje in izdelava sredstev za elektrovezavo. Kasneje se je proizvodnja preselila v Ljubljano. Tam so se na Inštitutu za elektrovezave odločili za nakup osnovnih aparatov in sredstev za proizvodnjo. Proizvodnja kondenzatorjev se je razširila in na inštitutu jih niso več smeli izdelovati, saj je bila to razvojna ustanova. Odločili so se, da bodo izdelavo preprostih delov preselili na podeželje. Obrat so postavili v Semič, na Vrtačo. Leta 1951 so bili sprejeti prvi delavci in ustanovljena je bila tovarna Telekomunikacije, obrat I. Semič. Tovarna se je skozi čas spreminjala in povečevala. V osemdesetih letih je tovarna povečala izvoz svojih izdelkov na vse celine ter dosegla število 1720 zaposlenih. Nato so se menjala lastništva tovarne, kar jo je pripeljalo do skorajšnjega propada. Leta 2014 je bilo v tovarni, ki se je priključila Iskri MIS d. d. Kranj, zaposlenih še 539 delavcev (Gruden, 2019).

### 2.5.2 Kondenzator

Kondenzator je element, ki lahko sprejme, shrani in odda elektriko. Sestavljen je iz dveh elektrod, ki sta si blizu, a se ne stikata. Med njima se nahaja izolator oz. dielektrik (Hodak, 2003). V tovarni Iskra Semič so v kondenzatorjih kot dielektrik uporabljali PCB-je zaradi njihovih ugodnih lastnosti.

### 2.5.3 Občina Semič

Občina obsega 47 naselij in se razprostira na površini 146,66 km<sup>2</sup>. Na tem območju živi 3849 prebivalcev. Kar 66 % občinske površine prekriva gozd, preostali del pa vrtačast kraški svet s travniki in njivami, s steljniki, Semiška gora pa je zasajena s trto (Občina Semič, 2019). Poselitev na območju občine je redkejša in razpršena po podeželju (Harlander, Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini z oceno tveganja za zdrave ljudi zaradi uživanja doma pridelanih živil (jajca, mleko, perutnina) in rib iz reke Krupe, glede na vsebnost PCB, 2011). Od aprila 2013 90,37 km<sup>2</sup> oz. 61,62 % občinske površine spada v evropsko omrežje posebnih varstvenih območij Natura 2000 (Natura 2000).

### 2.5.4 Reke, prizadete zaradi izpustov PCB-jev v naravo

Izvir reke Krupe se nahaja najbližje tovarniškemu odlagališču PCB-jev. Reka Krupa izvira jugovzhodno od Semiča, sredi severnega dela belokranjskega ravnika, pod 30 m visoko, tektonsko prelomljeno skalno steno. Izvir Krupe je po vodnatosti največji v Beli krajini. Absolutni minimalni pretok reke meri približno 400 l/s, povprečni minimalni pa okoli 1000 l/s. Višinska razlika med izvirom Krupe in izlivom je 6 m, kar je omogočalo, da so tam včasih delovali štirje mlinci in dve žagi (Ivanovič, Plut in Polič).

Krupa se izliva v reko Lahinjo po 2,5 km rečne struge. Reka Lahinja izvira iz več manjših izvirov v dolini pod vasjo Knežina. Reko obdaja pestra obrežna in vodna vegetacija, ki zagotavlja ugodne življenjske razmere različnim vodnim in obvodnim živalskim in rastlinskim vrstam. Reka je življenjski prostor kar štirinajstim vrstam, ki se nahajajo na seznamu ogroženih vrst Nature 2000 (Krajinski park Lahinja). Reka Lahinja se v vasi Primostek izliva v reko Kolpo.

### 2.5.5 Potek onesnaženja vodnega zaledja Krupe

Leta 1962 so v Semiču pričeli z uporabo PCB-jev kot dielektrika v kondenzatorjih. Do 1. 2. 1985, ko je Republiški sanitarni inšpektorat prepovedal uporabo PCB v proizvodnji, je bilo v Belo krajino uvoženih 3700 ton PCB. V tovarni so za vgradnjo v kondenzatorje porabili 3443,2 ton francoskega PCB Pyralene 1500 in 3000, v katerem so prevladovali klorobifenili z dvema in tremi klorovimi atomi. Ta mešanica je najbolj podobna ameriškemu Arokloru (Jan, Zupančič-Kralj in Žigon, 1994). Tehnološkega ostanka PCB do leta 1985 je bilo 246,1 ton. Od tega ga 6,2 tone niso porabili in ga odprodali. Na sežig v Francijo so ga poslali 169,9 tone. Preostalih 70 ton PCB-jev pa se je znašlo v okolju v obliki emisij ter odpadkov, odloženih v okolju. Poleg neposrednega onesnaženja kraškega podzemlja s 43 tonami odloženih odpadkov PCB na tovarniškem odlagališču, so k onesnaženju močno prispevale tudi emisije in aerogeni prenos PCB iz tehnološkega procesa v obdobju proizvodnje kondenzatorjev v letih od 1962 do 1985. Zaradi aerogenega prenosa se je območje onesnaženja močno razširilo. Velik del PCB-jev je pristal v vodnjakih, katerih voda se je uporabljala tudi za živali.

V letu 1991 je vsebnost PCB-jev v Semiču znašala od 50 do 100 ng/m<sup>3</sup>, v okolici soteske reke Krupe pa kar 380 ng/m<sup>3</sup>. Vrednost PCB-jev v zraku je bila ponovno merjena leta 2005, v okolici tovarne Iskra Semič. Do takrat je upadla, na 34,7 ng/m<sup>3</sup> (Harlander, POSLEDICE VPLIVA PCB NA OKOLJE V BELI KRAJINI V LETU 2005 Poročilo za javnost, 2005).

30 ton odpadkov je bilo mogoče fizično odstraniti s tovarniškega odlagališča, preostalih 13 ton PCB pa se je izcedilo oz. so jih padavine sprale s površine v kraško podzemlje vodnega zaledja reke Krupe (Harlander, Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini z oceno tveganja za zdrave ljudi zaradi uživanja doma pridelanih živil (jajca, mleko, perutnina) in rib iz reke Krupe, glede na vsebnost PCB, 2011).

### 2.5.6 Pretekle raziskave prisotnosti PCB-jev v Beli krajini

V letu 1983 so bile v vodi reke Krupe prvič izmerjene visoke koncentracije PCB-jev. Po njihovem odkritju v vodi so bile opravljene še preiskave vzorcev zraka, sedimenta, zemlje, organizmov in prehranskih artiklov (Lapajne, 2012).

O PCB-ju in njegovem vplivu na okolje so devet let po odkritju le teh znanstveniki v Črnomlju predstavili nalogo z naslovom »Ocena zdravstveno-ekoloških razmer na območju občin Metlika in Črnomelj v Beli krajini v zvezi z ekološko obremenitvijo s PCB«.

Raziskave so pokazale, da je koncentracija PCB-ja na obdelanih površinah manjša kot na neobdelanih. Kljub temu, da koncentracije PCB-ja v živilih niso presegale takratnih evropskih meja (100 nanogramov PCB na gram maščobe), so sprejeli sklep, da ribe iz reke Krupe zaradi previsokih vrednosti niso primerne za uživanje. Leta 1992 so sklenili, da bodo PCB-je nadzorovali še naprej, predvsem pa preverili neoporečnost deponije ob semiški Iskri (Bezek-Jakše, 1992).

Leta 2005 je Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano (NLZOH), takrat imenovani Zavod za zdravstveno varstvo Novo mesto, na osnovi pogodbe, sklenjene z Ministerstvom za zdravje, opravil raziskavo z naslovom »Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini v letu 2005«. Glavni cilji naloge so bili oceniti obremenjenost okolja s PCB-ji, oceniti, ali je reka Krupa primerna za ribolov in kopanje, predlagati ukrepe za zmanjšanje tveganja za zdravje ljudi ter predlagati morebitne poglobljene in usmerjene raziskave. To je bil prvi pregled stanja po raziskavi leta 1992. Vrste vzorcev in odvzemna mesta so izbrali z namenom, da bi omogočili najboljšo oceno stanja in primerljivost s študijo, izvedeno leta 1992. Odvzeti so bili vzorci živil (kurja jajca, svinjska mast, kravje mleko in orehi), vode iz kapnic, sedimenta in vode iz reke Krupe, makrozoobentosa (organizmi, ki živijo na rečnem dnu in so večji od 0,5 milimetra) iz reke Krupe in Lahinje, rib iz reke Krupe in zraka. PCB-je v vzorcih so določali s plinsko kromatografijo. V vseh vzorcih so določali PCB 101, 118, 138, 153, 180, 28, 25, v vzorcih rečne vode, sedimenta, vode iz kapnic in zraka pa še PCB 194, prav tako pa so v vzorcih, razen vode iz kapnic, rečne vode in zraka, določili tudi celotno vrednost vsebnosti PCB-jev.

Rezultati raziskave leta 2005 so pokazali, da so se koncentracije PCB-jev v ribah gibale med 6023 in 65861 ng/g PCB-ja jedilnih delov ribe. Rezultati analiz vrednosti PCB so pokazali veliko variabilnost. Povprečna vrednost PCB v ribah je bila 19476 ng/g jedilne ribe. V poročilu je za primerjavo naveden podatek iz leta 1992. Takrat so v 12 vzorcih rib vsebnosti PCB-jev znašale med 7200 in 177000 ng/g jedilnih delov ribe. Rezultati raziskave 2005 so tako pokazali, da so ribe iz reke Krupe še vedno močno kontaminirane in kakor v prejšnjih letih neprimerne za uživanje. V vzorcih okolja so bile vrednosti PCB-jev celo višje v primerjavi z rezultati iz leta 1992 (Harlander, POSLEDICE VPLIVA PCB NA OKOLJE V BELI KRAJINI V LETU 2005 Poročilo za javnost, 2005).

Leta 2010 je Ministrstvo za zdravje naročilo ponoven pregled stanja in oceno tveganja za zdravje ljudi zaradi uživanja rib iz reke Krupe in doma pridelanih živil. Opravljena je bila raziskava z naslovom »Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini z oceno tveganja za zdravje ljudi zaradi uživanja doma pridelanih živil (jajca, mleko, perutnina) in rib iz reke Krupe, glede na vsebnost PCB«. Odvzeti so bili vzorci kurjih jajc, kurjega mesa in kravjega mleka ter vzorci rib iz reke Krupe in Lahinje. V vseh vzorcih so določali vsebnost izomer PCB-jev (101, 118, 138, 153, 180, 170, 28, 52, 77, 126, 169, 105, 114, 123, 156, 157, 167 in 189) in skupno vsebnost vseh PCB-jev.

Rezultati v raziskavi leta 2010 so pokazali, da je vsebnost PCB-jev v ribah še vedno zaskrbljujoča. Vrednosti so prav tako kot v prejšnjih letih pokazale, da močno presegajo prag ukrepanja. V Lahinji je bila vrednost praga presežena 154-krat, v reki Krupi pa od 113-krat do 1674-krat. Oceno izpostavljenosti ter oceno tveganja so izračunali na podlagi določil Znanstvenega odbora

za hrano Evropske komisije iz leta 2000. Določen je bil dovoljen tedenski vnos za dioksine in dioksinom podobne PCB preko živil in hrane, ki znaša 14 pg/kg telesne teže. Po izračunih bi 70 kg težka odrasla oseba pri zaužitju 100 g ribe iz reke Krupe presegla še dovoljeni tedenski vnos za 499-krat. Pri zaužitju 100 g ribe iz reke Lahinje pa bi 70 kg težka odrasla oseba dovoljeni tedenski vnos presegla 59-krat (Harlander, Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini z oceno tveganja za zdrave ljudi zaradi uživanja doma pridelanih živil (jajca, mleko, perutnina) in rib iz reke Krupe, glede na vsebnost PCB, 2011).

### **2.5.7 Izpostavljenost ljudi v Beli krajini**

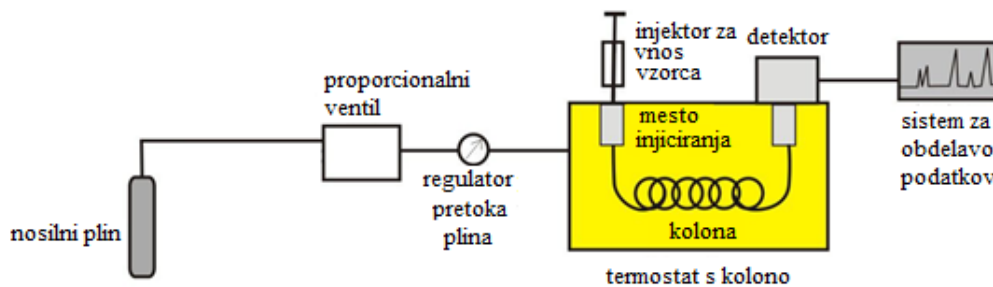
Po biomonitoringu, ki je potekal od leta 2007 do 2009, je bila izmerjena koncentracija nekaterih PCB-jev v materinem mleku in serumu prostovoljcev. Na območju Semiča je bila koncentracija PCB-jev 28, 52, 101, 118, 138, 153, in 180 110.000 pg/g mlečne maščobe, kar je 9,2-krat več kot na neobremenjenih področjih (tj. Kočevje). Koncentracija istih izomerov PCB-jev v serumu odraslih oseb je bila zaznana le na področju občine Semič in je znašala 650 pg/g (Hrovat idr., 2010).

Študija Onkološkega inštituta Ljubljana, oddelek za epidemiologijo in register raka, ki je potekala med leti 1962 – 1973, 1974 – 1985, 1986 – 1997 in 1998 – 2007, je pokazala, da je tveganje, da prebivalec/-ka Bele krajine zboli za katerimkoli rakom, enaka slovenskemu povprečju. Študija sicer ni pokazala povezave med onesnaženostjo s PCB-ji in razvojem raka na jetrih ali trebušni slinavki in ne-Hodgkinovih limfomov. Ugotovljeno pa je bilo, da je na tem področju povečano tveganje za raka žolčnika in žolčevodov. Med leti 1987 – 1997 je bilo tveganje za raka žolčnika in žolčevodov pri ženskah najvišje (4,3-krat višje na območjih onesnaženih s PCB-ji). V študiji predvidevajo, da je število rakavih obolenj na žolčevodu in žolčniku zaradi izpostavljenosti PCB-jem že doseglo svoj vrh (Zadnik, Ivanuš in Primic Žakelj, 2011).

Preučena je bila tudi koncentracija PCB-jev v dentinu zob otrok. Na obremenjenih področjih je ta znašala 38 ng/g dentina, na neobremenjenih področjih pa le 7 ng/g dentina. Izpostavljenost PCB-jem naj bi vplivala na povišano prevalenco otrok s prizadetimi stalnimi zobmi (Jan J., 1997).

## **2.6 Plinska kromatografija (GC)**

Plinska kromatografija je danes ena izmed ključnih metod za preučevanje organskih in anorganskih snovi. Omogoča analizo in ločevanje manjših, hlapnih in temperaturno obstojnih molekul (McNair & Miller, 1993).



Slika 5: Shema plinskega kromatografa (GC), prirejeno po (Deepak, 2013)

Tako kot pri vsaki vrsti kromatografije gre tukaj za ločevanje snovi med dvema fazama, stacionarno in mobilno. Slednjo pri plinski kromatografiji predstavlja plin. Ta mora biti inerten in ne sme reagirati s stacionarno fazo ali vzorcem. Zato se največkrat uporabljajo helij, dušik ali vodik (Sidisky, Baney, Stenerson in Desorcie, 2011). Stacionarno fazo predstavlja tanek sloj polimera, ki je prevlečen v notranjosti kromatografske kolone, narejene iz kvarca. Ločevanje različnih spojin v vzorcu poteka na osnovi polarosti. Snovi, ki s stacionarno fazo ne reagirajo, imajo najkrajši retencijski čas (se najhitreje izločijo iz kolone). Ločevanje različnih spojin v vzorcu poteka na osnovi temperature vrelišča in drugih lastnosti, npr. polarosti. Snovi, ki se ne zadržujejo v stacionarni fazi, imajo najkrajši retencijski čas (se najhitreje izločijo iz kolone). Ločevanje je mogoče zaradi različne intenzitete interakcij med stacionarno fazo in spojinami (UCLA, 2016).

### 2.6.1 GC-detektorji

Za detektiranje snovi se uporabljajo mnogi detektorji, naštetih so nekateri najpogostejši:

- plamensko-ionizacijski detektor (ang. flame ionization detector, krajše FID)
- detektor na toplotno prevodnost (ang. thermal conductivity detector, krajše TCD)
- masni spektrometer (ang. mass spectrometry, krajše MS)
- detektor na zajetje elektronov (ang. electron capture detector, krajše ECD) (UCLA, 2016)

### 2.6.2 ECD-detektor

Pri naši analizi rib na vsebnost PCB-jev smo uporabili detektor na zajetje elektronov (ECD), saj se le ta najpogosteje uporablja za zaznavanje polihalogeniranih organskih spojin, med katere spadajo PCB-ji (Linde AG).

V detektorju se nahaja emitor beta radioaktivnih žarkov ( $\beta$ ), to so na primer atomi izotopa niklja,  $^{63}\text{Ni}$  ali izotopa vodika  $^3\text{H}$ , tritij. Elektroni, ki predstavljajo  $\beta$  žarke, ionizirajo nosilni plin, kar ustvari počasno premikajoče se elektrone oz. merljiv in enakomeren električni tok. Ko so v nosilnem plinu prisotne spojine z elektronegativnimi funkcionalnimi skupinami, se tok elektronov zmanjša, kar lahko tudi zaznamo (Linde AG).



### 3 NAMEN DELA

Osnovni namen dela je bil preveriti prisotnost določenih PCB-jev v ribah iz rek Krupa, Kolpa in Lahinja ter vrednosti primerjati s podatki iz leta 2011, ko je bila izvedena zadnja analiza. Analizo naj bi izvedli z enako metodo, kot je bila uporabljena v preteklosti (GC-ECD), kar bi omogočilo verodostojnost primerjave. V nadaljevanju smo nameravale primerjati rezultate, pridobljene z dvema metodama, ki se razlikujeta v pripravi vzorcev rib – ekstrakciji vzorca (QuEChERS in ekstrakcija s heksanom) in detekciji na plinskem kromatografu z dvema vrstama detektorjev (GC-ECD in GC-MS-MS), ter ugotoviti, ali druga, še neveljavljena metoda (QuEChERS ekstrakcija in analiza z GC-MS-MS) daje ustrezne, to je točne in primerljive rezultate. Z vpeljavo te metode bi lahko prispevali k razširitvi možnosti spremljanja vsebnosti PCB-jev na kontaminiranih območjih in zaradi manjše porabe nevarnih topil prispevali k varovanju okolja.

#### 3.1 CILJI

Pred pričetkom dela smo si zastavile naslednje cilje:

- Teoretično preučiti PCB-je in njihov vpliv na okolje in človeka.
- Pregledati stare rezultate vsebnosti PCB-jev v Beli krajni
- Izvesti ekstrakcijo rib in analizirati vzorce na vsebnost PCB-jev s preverjeno in pri starih analizah uporabljeno metodo plinske kromatografije (GC) z ECD-detekcijo.
- Primerjati dobljene vsebnosti PCB-jev po metodi GC-ECD v ribah iz reke Krupe in Lahinje s starimi rezultati.
- Izračunati TEKV za prisotne, dioksinom podobne PCB-je s podano vrednostjo TEF.

#### 3.2 HIPOTEZE

Pri svojem raziskovalnem delu smo postavile naslednje hipoteze:

- V naših vzorcih rib bodo prisotni PCB-ji, vrednosti bodo nižje kot pred desetimi leti.
- Ribe iz izvira Krupe bodo s PCB-ji kontaminirane bolj kot ribe iz Lahinje.
- Ribe imajo še vedno previsoko vsebnosti PCB-jev, da bi bile primerne za uživanje.
- Izračunan TEKV za posamezne toksične PCB-je ne bo veliko odstopal od tistega iz leta 2010.



## 4 MATERIALI

### 4.1 Laboratorijski pribor in oprema

- laboratorijski plašč
- rokavice (Halyard, ZDA)
- zaščitna očala (UVEX, Nemčija)
- laboratorijska steklovina (DURAN, Nemčija in LabTeh, Slovenija)
- avtomatska pipeta (Brand®, Nemčija)
- GC-viale s pokrovčki (La-Pha-Pack, Nemčija)
- rotacijski uparjalnik Rotavapor R-300/100 Rotary Evaporator (Büchi, Švica)
- stresalnik (Phoenix Instruments, Nemčija)

### 4.2 Aparatura za analizo

- plinski kromatograf HP 6890 (GC) z detektorjem ECD (Agilent, ZDA)
- avtomatski vzorčevalnik
- kapilarna kolona za plinsko kromatografijo HP-5 (30 m x 0,320 mm x 0,25 mm) s stacionarno fazo (5 %- fenil)- metil-polisiloksan (Agilent, ZDA)

### 4.3 Kemikalije in uporabljene snovi

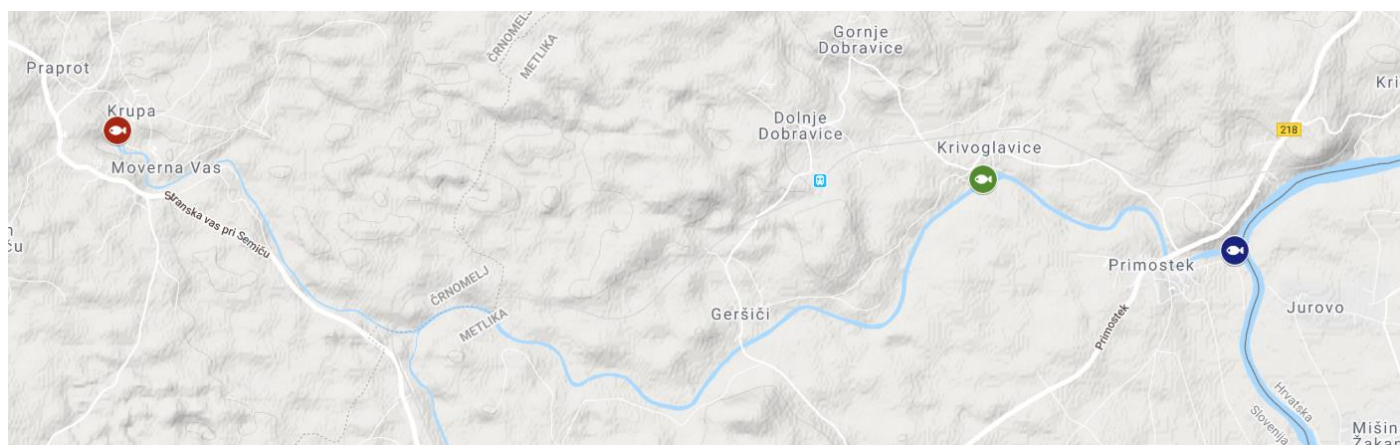
- steklena volna
- dušik, N<sub>2</sub> (Messer, Slovenija)
- etanol, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (Honeywell, ZDA)
- amonijak, NH<sub>3</sub> (Honeywell, ZDA)
- dietil eter, (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O (Honeywell, ZDA)
- heksan, C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> (J. T. Baker, ZDA)
- 10-% vodna raztopina natrijevega sulfata, Na<sub>2</sub>SO<sub>4(aq)</sub>
- silika gel (Sigma Aldrich, Nemčija)
- Florisil (J. T. Baker, ZDA)
- magnezijev silikat, MgO<sub>3</sub>Si (znamka)
- aluminijev oksid, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, Nemčija)
- žveplova kislina, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Honeywell, ZDA)
- pirogen baker (pripravljen v laboratoriju NLZOH-a)
- diklorometan, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (J. T. Baker, ZDA)
- PCB 209 (Dr. Ehrenstorfer, Nemčija)

## 5 METODE DELA

### 5.1 Odvzem vzorcev - ribolov

Ribe smo lovile 13. februarja 2020, skupaj z ribiči Ribiške družine Metlika (Slika 7). V reki Krupi smo lovili tik ob izviru in ulovili postrv in klena. V reki Lahinji smo lovili v kraju Krivoglavice ter ulovili dve majhni platnici. Naš namen je bil uloviti tudi ribe v reki Kolpi, tik ob izlitju Lahinje vanjo, a na žalost pri ribolovu nismo bili uspešni. Ker se je ribolovna sezona v tistem tednu zaključila, nam ponovitve ribolova ni uspelo izvesti.

Mesta ulova so označena na zemljevidu (Slika 6).



Slika 6: Mesta odvzema vzorcev



Slika 7: Utrinki z ribolova (osebni arhiv)

Vse ulovljene ribe smo po ulovu stehtali in ocenili starost (Tabela 3) ter jih shranili v vrečke za živila. Do analize smo jih v vrečkah shranili zamrznjene.

Tabela 3: Opisi ulovljenih rib

KRAJ LOVLJENJA	DATUM LOVLENJA	VRSTA RIBE	OCENJENA STAROST RIBE	MASA RIBE
izvir reke Krupe	13.2.2020	postrv	1-2 leti	493 g
Izvir reke Krupe	13.2.2020	klen	1 leto	72 g
Krivoglavice	13.2.2020	platnica	1-2 leti	112 g
Krivoglavice	13.2.2020	platnica	1-2 leti	54 g

## 5.2 Priprava raztopin standarda za analizo GC-ECD

Pripravimo raztopino standardov v koncentraciji, zapisani v protokolu metode za analizo PCB-jev, ki je del poslovne dokumentacije NLZOH. Raztopina je vsebovala naslednje PCB-je: 28, 52, 101, 118, 153, 138 in 180. Vse raztopine standardov z metodo po protokolu analiziramo ter izračunamo izkoristke, s čimer zagotovimo točnost rezultatov analize v vzorcih.

## 5.3 Priprava raztopin vzorcev za analizo GC-ECD

Uporabljena metoda ekstrakcije s heksanom kot tudi sama metoda analize na GC-ECD je preverjena in del poslovne dokumentacije NLZOH. Zaradi tega je v nadaljevanju opisan le postopek brez količin.

Analizo izvedemo v dveh paralelkah, prva samo z vzorcem rib, druga s standardnim dodatkom. Vzorce pred in med analizo ustrezno redčimo (10-kratno, 50-kratno in 100-kratno pri vzorcu ribe iz Lahinje ter še dodatno 500-kratno in 1000-kratno pri vzorcu ribe iz Krupe), da dosežemo koncentracije PCB-jev v vzorcih, ki so v območju umeritvene premice. Na ta način dobimo tudi več rezultatov.

Pretekle analize z enako metodo (GC-ECD) so bile izvedene z uporabljenim jedilnim delom ribe. Enako pri ribah iz reke Krupe tudi tokrat uporabimo jedilni del postrvi (lat. *Salmo trutta*). Za analizo na prisotnost PCB-jev iz reke Lahinje zaradi premajhne mase ribe uporabimo celo ribo platnico (lat. *Rutilus pigus virgo*), ne le njen jedilni del.

### 5.3.1 Ekstrakcija vzorca iz rib

Ribe homogeniziramo. V erlenmajerico natehtamo ustrezne količine homogeniziranega vzorca.



*Slika 8: Vzorci pripravljeni za ekstrakcijo (osebni arhiv)*

V vse erlenmajerice dodamo določeno količino etanola in amonijaka. Med dodajanjem erlenmajerico večkrat stresemo. Dodamo tudi ustrezno količino dietil etra in heksana. Erlenmajerice zapremo in damo na stresalnik, kjer jih intenzivno stresamo 15 minut. Počakamo da se suspenzija posede, med tem pa pripravimo lij ločnik z lijem, na katerem je steklena volna. Topilo iz erlenmajerice prefiltriramo v lij ločnik, pri tem smo pozorni, da delci ribe ostanejo v erlenmajerici. Postopek ekstrahiranja (od dodajanja heksana naprej) ponovimo še trikrat (skupno ekstrahiramo štirikrat). Po zadnji, četrti ekstrakciji celoten vzorec, vključno z ribami, prelijemo na lij. Vzorec nato petkrat speremo s heksanom.

### 5.3.2 Spiranje

V lij ločnik dodamo ustrezen volumen 10 % vodne raztopine natrijevega sulfata in ga rahlo zavrtimo. Če se pojavi mrežasta struktura, počakamo 15 minut in izpustimo spodnjo, vodno fazo. Postopek večkrat ponovimo, dokler se mrežasta struktura ne pojavi več. Lij ločnik močno stresamo 1 minuto. Počakamo, da se fazi ločita, nato izpustimo vodno fazo.

### 5.3.3 Čiščenje ekstrakta z žveplovo kislino

Ekstrakte je potrebno očistiti s koncentrirano žveplovo kislino. V digestoriju določen volumen kisline postopoma dodajamo v lij ločnik. Pri tem smo pozorni, da se vzorec ne pregreje oz. zavre. Pri čiščenju sprva nastane obarvana emulzija na dnu lija. Počakamo, da se emulzija in ekstrakt popolnoma ločita v dve fazi, nato spodnjo plast odlijemo v odpad za kisline. Ponovno dodamo kislino in odlijemo spodnjo fazo. Ko opazimo, da je spodnja faza brezbarvna oz. rahlo rumenkasta, lahko vzorec močneje stresemo. Če je kislina po eni minuti intenzivnega stresanja še vedno brez barve, fazi pa se hitro ločita, odlijemo kislino in dodamo svežo ter pustimo lij ločnik stati od 30 minut do ene ure.





*Slika 9: Čiščenje z žveplovo kislino (osebni arhiv)*

Če kislina v tem času rahlo porumeni, lij ločnik s kislino in ekstraktom stresamo eno minuto.

#### **5.3.4 Koncentriranje in čiščenje na koloni**

Očiščene ekstrakte spustimo skozi natrijev sulfat v bučko in na rotovaporju odparevamo do končne količine 10 ml.

Pripravimo adsorpcijsko kolono, na kateri bomo ekstrakt očistili. V kromatografsko cev (od spodaj navzgor) dodamo čep iz steklene volne, silikagel, bazičen silikagel, kisel silikagel, florisil in aluminijev oksid.



*Slika 10: Čiščenje na adsorpcijski koloni (osebni arhiv)*

Pripravljeno kolono omočimo z ustrezno količino heksana. Ko ta priteče iz kolone, jo zapremo in dolijemo še toliko heksana, da ga je nad polnilom v koloni še 2 cm. Dodamo pirogeni baker in odpremo ventil na koloni. Izpustimo heksan do nekaj milimetrov nad pirogenim bakrom.

Na pripravljeno kolono zlijemo koncentriran vzorec. Pod njo postavimo epruveto za uparjevanje. Vzorec počasi spuščamo skozi kolono. Ko priteče do faze, zapremo ventil, in bučko, v kateri smo imeli vzorec še dvakrat speremo s heksanom ter dodamo na kolono. Odpremo ventila in ponovno počasi spuščamo skozi kolono. Ko vzorec doseže fazo kolono speremo enkrat s heksanom in dvakrat z mešanico heksana in diklorometana.

Ekstrakt v epruveti uparimo do okoli 0,5 ml in prenesemo v vialo. Epruveto speremo z mešanico heksana in diklorometana in prav tako dodamo v vialo.

#### **5.4 Priprava slepih raztopin vzorcev ter raztopin vzorcev s standardnim dodatkom za analizo GC-ECD**

Slepe raztopine pripravimo po enakem postopku kot same raztopine vzorcev, le da v erlenmajerico homogeniziranega vzorca rib ne dodamo.

Po enakem postopku kot raztopine vzorcev pripravimo tudi raztopine vzorcev s standardnim dodatkom, le da k homogeniziranemu vzorcu v erlenmajerici dodamo standarde PCB-jev v ustrezni koncentraciji, glede na protokol analize.

#### **5.5 Priprava umeritvene premice**

Pripravimo raztopine standardov PCB-jev v ustreznem koncentracijskem območju za umeritveno premico, iz katere izračunamo koncentracijo PCB-jev v naših vzorcih.

#### **5.6 Priprava raztopin za analizo na GC-ECD**

V vse raztopine standardov, slepega vzorca in vzorcev rib pred analizo dodamo ustrezno količino internega standarda PCB 209.

#### **5.7 Analiza z GC-ECD**

Pripravimo plinski kromatograf ter glede na uporabljeno metodo na njem nastavimo ustrezne parametre analize.

Pripravljene vialo z raztopinami standardov za umeritveno krivuljo, slepim vzorcem, vzorci rib ter vzorci rib s standardnim dodatkom postavimo na ustrezna mesta na avtomatskem vzorčevalniku plinskega kromatografa.

Analizo vzorcev po predpisanem postopku izvedemo v dveh paralelkah. Za vsako posnamemo kromatogram. Če so površine kromatografskih vrhov v originalno pripravljene raztopini vzorca izven območja umeritvene premice, raztopine vzorcev ustrezno redčimo (10-kratno, 50-kratno in 100-kratno pri vzorcu ribe iz Lahinje ter še dodatno 500-kratno in 1000-kratno pri vzorcu ribe iz Krupe).

Z vsemi vzorci, prvotnimi in redčenimi, izvedemo analizo, iz dobljenih površin kromatografskih vrhov in umeritvene premice standardov izračunamo koncentracije posameznih PCB-jev v vzorcih ter le te ustrezno interpretiramo.

## 6 REZULTATI IN INTERPRETACIJA

### 6.1 Analiza standardov

Za analizo smo uporabili 0,1 mL raztopin standardov posameznih PCB-jev v koncentraciji 0,01 µg/mL (dodana koncentracija). Po končani analizi smo iz odzivov za posamezni PCB izračunali koncentracijo v µg/mL (dobljena koncentracija) ter izkoristke v odstotkih, tako da smo dobljene koncentracije delili z dodanimi (Tabela 4). Z izkoristki, ki morajo biti po protokolu NLZOH v mejah od 70 do 130 %, zagotovimo točnost rezultatov.

Tabela 4: Izkoristki standardov posameznih PCB-jev

Ime spojine v standardu	Dodana koncentracija (µg/mL)	Dobljena koncentracija (µg/mL)	Izkoristek (%)
PCB 28	0,0100	0,009023	90,2
PCB 52	0,0100	0,01016	101,6
PCB 101	0,0100	0,01179	117,9
PCB 118	0,0100	0,01121	112,1
PCB 153	0,0100	0,009505	95,1
PCB 138	0,0100	0,009099	91,0
PCB 180	0,0100	0,01118	111,8

Izkoristki standardov so od 90,2 % za PCB 28 do 117,9 % za PCB 101, vsi pa so ustrezni glede na postavljene meje.

### 6.2 Analiza slepih vzorcev

Z analizo slepega vzorca zagotovimo, da v uporabljenih kemikalijah ali steklovini ni prisotnih PCB-jev, ki bi motili analizo oziroma, da v primeru prisotnosti le to upoštevamo pri rezultatih analiz vzorcev rib. Rezultate morebitnih prisotnih PCB-jev v slepih vzorcih glede na odziv izračunamo v µg/mL (Tabela 5).



Tabela 5: Analiza slepih vzorcev na prisotnost PCB-jev

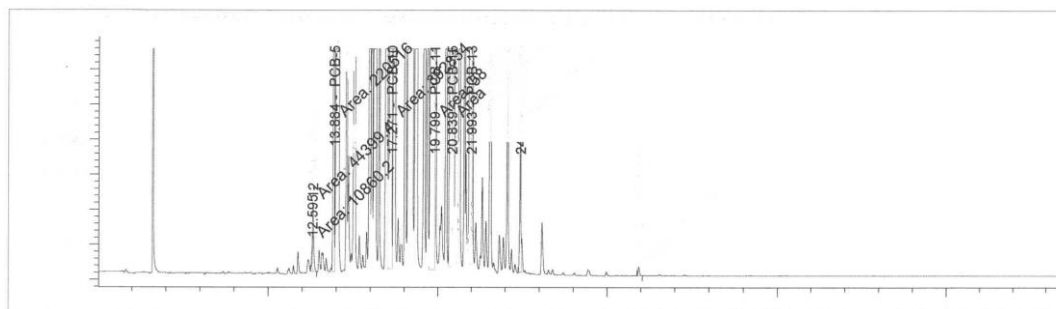
PCB v slepem vzorcu	Dobljena koncentracija ( $\mu\text{g/mL}$ )
PCB 28	vrednost ni merljiva
PCB 52	vrednost ni merljiva
PCB 101	vrednost ni merljiva
PCB 118	vrednost ni merljiva
PCB 153	0,000306142
PCB138	vrednost ni merljiva
PCB 180	vrednost ni merljiva

Kot je razvidno iz rezultatov, slepi vzorec (kemikalije in steklovina) vsebuje v zaznavni količini le PCB 153, a še tega v tako majhni količini, da ne vpliva bistveno na rezultat. Kljub vsemu pri rezultatih vzorcev za PCB 153 upoštevamo dobljeno vrednost v slepem vzorcu.

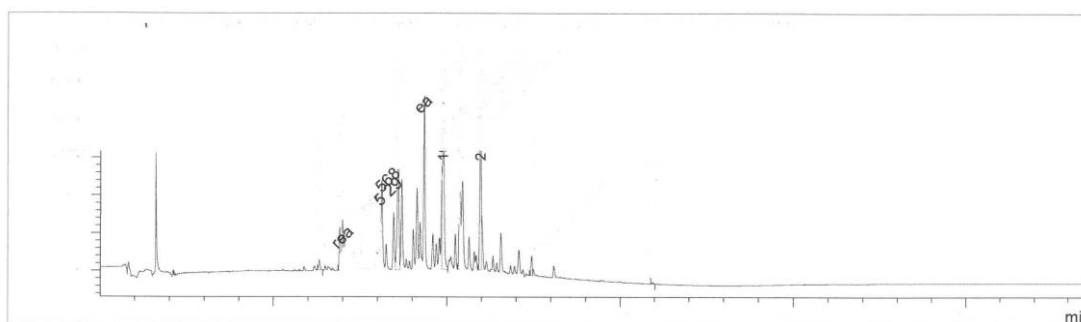
### 6.3 Analiza vzorcev

Vzorci rib analiziramo na prisotnost enakih PCB-jev, kot so standardi: PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB 153, PCB 138 in PCB 180.

Pripravljenim raztopinam vzorcev posnamemo kromatograme.



Slika 11: Primer kromatogram raztopine vzorca s prevelikimi koncentracijami PCB-jev



Slika 12: Primer kromatogrami raztopine vzorcev z ustreznimi koncentracijami PCB-jev

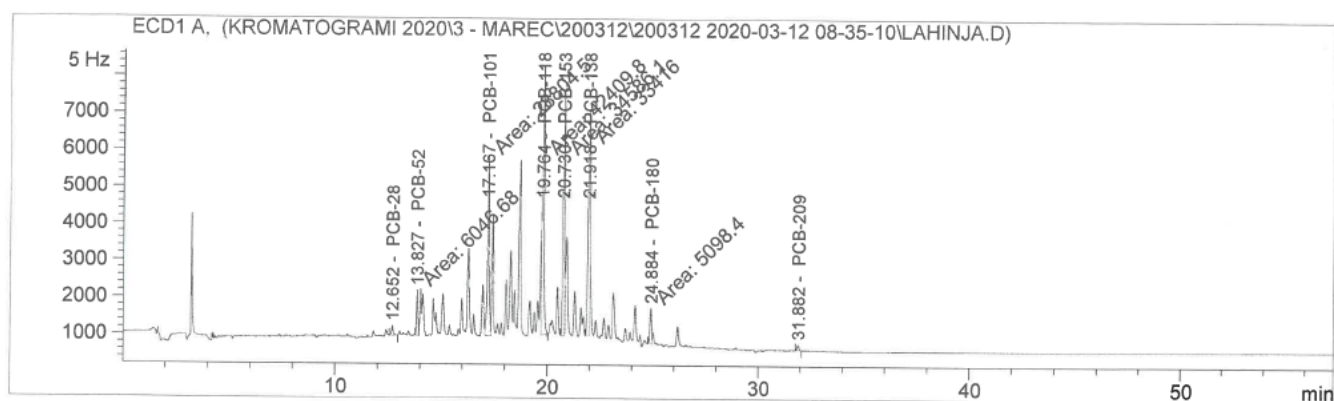
### 6.3.1 Rezultati vzorcev ribe platnice iz Lahinje

Za analizo uporabimo celotno ribo platnico, pripravimo dve paralelki vzorca. Ker je bilo vzorca rib premalo za ustrezno natehto po protokolu, le to zmanjšamo na polovico.

$$m_{vz1} = 15,08 \text{ g}$$

$$m_{vz2} = 15,01 \text{ g}$$

Zaradi manjše količine vzorca je bila tudi homogenizacija le tega slabša, kar vpliva na njihovo manjšo ponovljivost.



Slika 13: Kromatogram raztopine vzorca (Lahinja)

Vse vzorce, kjer so kromatografski vrhovi za posamezne PCB-je zaradi koncentracije izven območja umeritvene premice odrezani, ustrezno redčimo, da dosežemo ustrezno koncentracijsko območje. Redčimo jih 10-, 50- in 100-krat ter zaradi tega za posamezne PCB-je dobimo več rezultatov, za vsak PCB vsaj dva (Tabela 6). Z upoštevanjem vseh rezultatov obeh paralelk izračunamo povprečne vrednosti posameznih PCB-jev v pg/g ribe ter relativni standardni odklon (RSD) v odstotkih, kjer so rezultati vsaj trije (Tabela 6).

V tabeli so predstavljeni uporabljeni rezultati in njihovo povprečje ter RSD v odstotkih. Mesta označena z »x«, nimajo ustreznih rezultatov, saj so imeli kromatografski odzivi za posamezne PCB-je odrezan vrh, ker je bila njihova koncentracija izven območja umeritvene krivulje in je bila potrebna ustrezna redčitev. Izračunani PCB-ji skupno so podani pri prvih dveh rezultatih, kjer imamo za vse izomere PCB-jev ustrezne rezultate.

Tabela 6: Posamični ter povprečni rezultati posameznih PCB-jev v vzorcih rib in izračun RSD za reko Lahinjo

Izomer PCB-ja	Posamični in povprečni rezultati (pg/g)						RSD (%)
	1. rezultat	2. rezultat	3. rezultat	4. rezultat	5. rezultat	povprečje	
<b>PCB 28</b>	3070,0	3150,0	3060,0	2910,0	2740,0	<b>2990</b>	<b>5,44</b>
<b>PCB 52</b>	21730,0	20890,0	21740,0	x	x	<b>21450,0</b>	<b>2,27</b>
<b>PCB 101</b>	42950,0	45930,0	x	x	x	<b>44044,0</b>	
<b>PCB 118</b>	42720,0	47180,0	x	x	x	<b>44950,0</b>	
<b>PCB 153</b>	41390,0	46500,0	x	x	x	<b>43950,0</b>	
<b>PCB 138</b>	43520,0	51140,0	x	x	x	<b>47330,0</b>	
<b>PCB 180</b>	4200,0	4640,0	5090,0	x	x	<b>4640,0</b>	<b>9,58</b>
<b>PCB skupno</b>	199580,0	219430,0				<b>209510,0</b>	

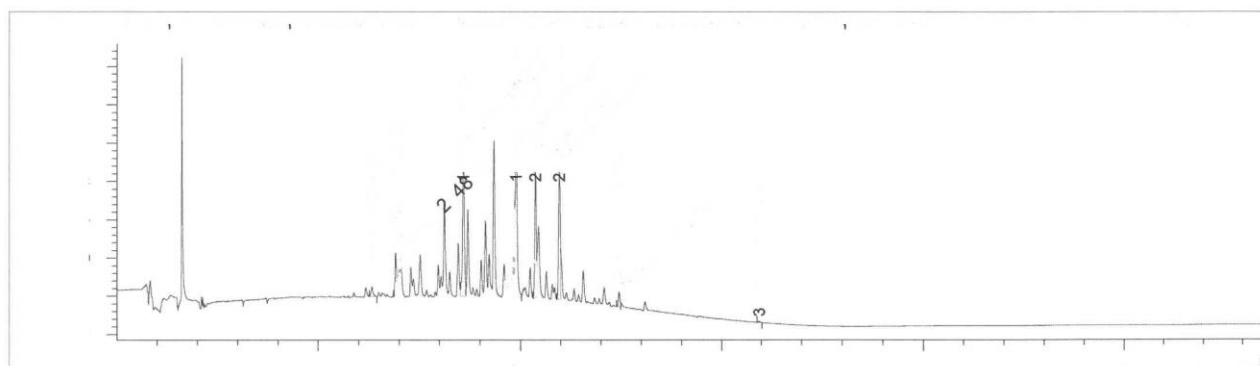
K skupnemu povprečju koncentracij PCB-jev v največji meri prispevajo izomere 101, 118, 153 in 138, medtem ko je vrednost PCB-jev 28 in 180 v primerjavi z ostalimi zanemarljiva.

Od naštetih PCB-jev, ki največ prispevajo k skupni vrednosti, je PCB 118 eden izmed tistih, ki spada med najbolj toksične in za katere je podana vrednost faktorja toksične ekvivalence (TEF) (Tabela 2).

### 6.3.2 Analiza vzorcev ribe iz reke Krupa

Za analizo je bil odvzet le jedilni del (file) postrvi.

$m_{vz1} = 15,01 \text{ g}$



Slika 14: Kromatogram raztopine vzorca (Krupa)

Čeprav prvotno pripravimo dve paralelki, zaradi težav pri pripravi vzorcev uporabimo le eno. Raztopino tudi tokrat, kot v primeru Lahinje, ustrezno redčimo, da so koncentracije v ustreznem območju umeritvene premice. Redčimo 10-, 50-, 100-, 500- in 1000-krat ter zaradi tega za posamezne PCB-je dobimo več rezultatov, za vsak PCB vsaj dva (Tabela 7). Z upoštevanjem vseh rezultatov izračunamo povprečne vrednosti posameznih PCB-jev v pg/g ribe ter relativni standardni odklon (RSD) v odstotkih, kjer so rezultati vsaj trije (Tabela 7).

Podobno kot pri analizi rib iz Lahinje so mesta v tabeli, označena z x, brez ustreznih rezultatov zaradi koncentracije PCB-jev, ki so bile izven območja umeritvene premice, zato so bile potrebne redčitve.

Izračunani PCB-ji skupno so podani pri prvih dveh rezultatih, kjer imamo za vse izomere PCB-jev ustrezne rezultate.

Tabela 7: Rezultati in izračun RSD za reko Krupo

Ime spojine	Posamični in povprečni rezultati (pg/g)						RSD (%)
	1. rezultat	2. rezultat	3. rezultat	4. rezultat	5. rezultat	povprečje	
<b>PCB 28</b>	16300,0	13250,0	13530,0	11380,0	11250,0	<b>13140,0</b>	<b>15,6</b>
<b>PCB 52</b>	60720,0	54450,0	x	x	x	<b>57580,0</b>	<b>x</b>
<b>PCB 101</b>	172390,0	137030,0	x	x	x	<b>154710,0</b>	<b>x</b>
<b>PCB 118</b>	145040,0	129270,0	x	x	x	<b>137150,0</b>	<b>x</b>
<b>PCB 153</b>	99790,0	91330,0	x	x	x	<b>95560,0</b>	<b>x</b>
<b>PCB 138</b>	132060,0	121460,0	x	x	x	<b>126750,0</b>	<b>x</b>
<b>PCB 180</b>	8370,0	8640,0	8200,0	7220	x	<b>8100,0</b>	<b>7,6</b>
<b>PCB skupno</b>	634670,0	555430,0				<b>595050,0</b>	

K skupnemu povprečju koncentracij PCB-jev v največji meri prispevajo izomere 101, 118 in 138, medtem ko je vrednost PCB-ja 180 v primerjavi z ostalimi zanemarljiva. Najvišja koncentracija je bila zaznana pri PCB-jih 101 in 118, slednji spada med najbolj toksične, dioksinu podobne PCB-je, zanj je podana vrednost TEF 0,0001.

#### 6.4 Časovna primerjava koncentracij skupnih PCB-jev

Primerjali smo dobljene vrednosti skupnih PCB-jev naših analiz z zadnjimi, uradno izvedenimi leta 2010 (Harlander, Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini z oceno tveganja za zdrave ljudi zaradi uživanja doma pridelanih živil (jajca, mleko, perutnina) in rib iz reke Krupe, glede na

vsebnost PCB, 2011). Pri primerjavi smo upoštevali rezultate enakih vrst rib, ulovljenih na podobnih ribolovnih mestih (Tabela 8), podatki pa veljajo za skupno količino PCB-jev.

Tabela 8: Časovna primerjava skupnih PCB-jev v Krupi in Lahinji

Reka	Leto	Koncentracija PCB-jev (pg/g)
Lahinja (riba platnica)	2010 (ribolov nad mostom v Geršičih)	<b>428.100</b>
	2020 (ribolov v kraju Krivoglavice)	<b>209.510</b>
Krupa (riba postrv, približno enake starosti, 1 – 2 leti)	2010 (pod jezom na izviru Krupe)	<b>1.841.070</b>
	2020 (pod jezom na izviru Krupe)	<b>595.050</b>

V obeh rekah so koncentracije skupnih PCB-jev v vzorcih rib v zadnjih desetih letih padle, v Lahinji na približno polovico, v Krupi pa na približno tretjino.

## 6.5 Časovna primerjava toksičnega ekvivalenta (TEKV) za PCB 118

Toksični ekvivalent lahko izračunamo le za določene, dioksinom podobne PCB-je. V naših vzorcih smo določili prisotnost le enega takšnega, to je PCB 118 (vrednost TEF 0,0001; Tabela 2), za katerega smo na voljo imeli standard. Žal za veliko bolj strupen, dioksinu podoben PCB, to je PCB 126 (vrednost TEF 0,1; Tabela 2), na voljo ni bilo ustreznega standarda in analiza zanj ni bila mogoča.

Izračun toksičnega ekvivalenta je bil tako mogoč le za PCB 118. Koncentracijo PCB 118 v pg/g smo pomnožili z vrednostjo TEF zanj, da smo dobili TEKV.

Tabela 9: Primerjava TEKV v letu 2010 in 2020

Reka	Leto	TEKV za PCB 118 (pg/g)
Lahinja	2010	<b>10,40</b>
	2020	<b>4,50</b>
Krupa	2010	<b>56,54</b>
	2020	<b>13,18</b>

Opazimo, da je vrednost TEKV v zadnjih desetih letih upadla za slabo polovico v ribi iz reke Lahinje ter na četrtno v ribi iz reke Krupe. Pri tem je treba upoštevati, da so PCB-ji veliko boljše topni v maščobah, ki jih je v ribah največ pod kožo. Pri naši analizi smo za analizo iz Lahinje uporabili celo ribo, medtem ko je bil za Krupo analiziran le jedilni del ribe. Ker so bili za pretekle analize vzeti le jedilni deli rib, bi bil rezultat za Lahinjo ob upoštevanju tega dejstva verjetno drugačen.

## 7 RAZPRAVA

**HIPOTEZA 1:** V naših vzorcih rib bodo prisotni PCB-ji, vrednosti bodo nižje kot pred desetimi leti.

Kot rezultat smo primerjali vsoto koncentracij PCB izomer 101, 118, 138, 180, 28 in 52. Pri primerjavi vrednosti skupnih PCB-jev je razviden trend padanja njihovih koncentracij, saj je vrednost v reki Lahinji znašala še polovico, v reki Krupi pa približno tretjino vrednosti iz leta 2010.

Seveda je treba poudariti, da naši vzorci nikakor niso reprezentativni niti jih ni mogoče jemati kot povsem točne. Omejitve so že pri številu ulovljenih in analiziranih rib, ki jih je bilo v preteklih letih precej več, v našem primeru smo imeli na voljo le eno ribo.

Ker smo poleg tega del ribe še shranili za analizo na prvotno planiranem GC-MS-MS, je bila količina vzorca (pre)majhna, da bi lahko iz njega pripravili uspešno homogenizirane paralelke vzorcev (vsaj tri).

Zagotovo lahko trdimo, da so PCB-ji v ribah še zelo prisotni, vprašanje je le, kateri in v kakšni količini ter tudi koliko posameznih PCB-jev se pretvarja drug v drugega.

Vsekakor se pokaže potreba po analizi večjega števila različnih rib ter opravljenih analizah več različnih vzorcev kot tudi analiza v več paralelkah. Šele tako bi bila primerjava dejansko veliko bolj verodostojna.

**HIPOTEZA 2:** Ribe imajo še vedno previsoko vsebnost PCB-jev, da bi bile primerne za uživanje.

Po zakonodaji EU je od 30. maja 2001 sprejeto mnenje o dioksinih in dioksinom podobnih PCB v hrani, ki določa sprejemljiv tedenski vnos (ang. tolerable weekly intake, TWI) 14 pg toksičnega ekvivalenta (ang. toxic equivalent, ang. TEQ, slo. TEKV) Svetovne zdravstvene organizacije (ang. world health organization, WHO) na kilogram telesne mase (UREDBA KOMISIJE (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih, 2006). Z upoštevanjem naših meritev in izračunov TEKV že z enim PCB-jem (PCB 118) dosežemo mejo TWI. Če bi v svoji analizi določevali še vrednost PCB-ja 126, ki ga je bilo v analizi leta 2010 prisotno največ, bi bile meje že močno presežene. Ribe posledično še vedno ne bi bile primerne za uživanje.

**HIPOTEZA 3:** Ribe iz izvira Krupe bodo s PCB-ji kontaminirane bolj kot ribe iz Lahinje.

Za primerjavo kontaminiranosti so vzete povprečne koncentracije skupnih PCB-jev in naša hipoteza je zagotovo potrjena. V vzorcih iz reke Krupe je bilo zaznано za 385540 pg/g več skupnih PCB-jev. Višja koncentracija bi lahko bila posledica lokacije nekdanjega tovarniškega odlagališča podjetja Telekomunikacije, obrat I. Semič, ki ne leži daleč od samega izvira Krupe.

Do podobnih zaključkov so prišli tudi v starejših raziskavah. Koncentracije PCB-jev so bile najvišje pri izviru Krupe, s povečevanjem razdalje pa so vrednosti pričele upadati (Jan, Zupančič-Kralj in Žigon, 1994).

Pri tej hipotezi je pomembno omeniti še, da je bila za analizo PCB-jev v ribah iz reke Lahinje uporabljena celotna riba – vključno z maščevjem in jetri, kjer se PCB-ji primarno kopičijo. Razlika v vrednosti bi bila verjetno še bolj velika, če bi pri ribah iz obeh rek uporabili samo jedilni del.

**HIPOTEZA 4:** Izračunan TEKV za posamezne najbolj toksične PCB-je ne bo veliko odstopal od tistega iz leta 2010.

V vzorcih rib smo določili izomer PCB 118, ki sicer spada med dioksinom podobne, toksične PCB-je, nima pa najvišjega TEF, saj ta znaša 0,0001. Največjo toksičnost med PCB-ji ima izomer PCB 126, katerega vrednost TEF znaša 0,1. Slednji v naši analizi žal ni bil določen, ker zanj ni bilo na voljo ustreznega standarda. Omenjeni PCB je bil pri zadnji analizi iz leta 2010 eden izmed PCB-jev z najvišjo izmerjeno koncentracijo in posledično najvišjim TEKV (16.800 pg/g mokre mase ribe oz. 1.680 pg/g TEKV) (Harlander, Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini z oceno tveganja za zdrave ljudi zaradi uživanja doma pridelanih živil (jajca, mleko, perutnina) in rib iz reke Krupe, glede na vsebnost PCB, 2011).

Po pregledu naših rezultatov ugotovimo, da se je TEKV za PCB 118 v zadnjih desetih letih v obeh rekah zmanjšal. V reki Krupi je upadel za 43,36 pg/g, v reki Lahinji pa za 5,9 pg/g. Kljub temu samo po primerjavi ene vrednosti ne moremo sklepati na statistično značilnost rezultata. Trenutne vrednosti TEKV sicer kažejo na izboljšanje, vendar ne morejo podati natančne ocene trenutnega stanja. Zaradi razlogov, ki so že navedeni pri hipotezi 1 (premalo vzorca in paralelk, malo ulovljenih rib), je zagotovo okrnjena točnost rezultatov. Prav tako ni bil izračunan TEKV za PCB 126, ki je bil v naših vzorcih gotovo prisoten, saj je zanj znano, da ima dolgo obstojnost.

## 8 ZAKLJUČEK

Raziskovalna naloga nam je kot dijakinjam omogočila vpogled v svet analizne kemije in delo s plinskim kromatogramom. Pridobljene izkušnje nam bodo gotovo zelo koristile tudi v prihodnje.

Rezultati naše analize so nam in lokalnim prebivalcem podali približno oceno trenutnega stanja onesnaženosti s PCB-ji v rekah Krupe in Lahinje. Točnost rezultatov bi bila lahko zagotovljena z večjim številom analiziranih rib in posledično boljšo homogenizacijo vzorcev, izvedba v več paralelkah pa bi nam podala večje število veljavnih rezultatov, ki bi jih lahko uporabili za podajanje natančnejših vrednosti PCB-jev v zgoraj navedenih rekah danes.

Kljub temu so rezultati naše analize pokazali na izboljšanje stanja v primerjavi z letom 2010. V obeh rekah je bil zaznan padec koncentracij skupnih PCB-jev, vendar ti še vedno presegajo dovoljene meje. Zaradi tega bi uživanje rib iz zgoraj navedenih rek še vedno odsvetovale.

Enega izmed ciljev naše naloge nam v tem letu žal ni uspelo doseči. To je uvedba nove metode ekstrakcije QuEChERS in analiza z GC-MS-MS. V prihodnosti želimo naše raziskovalno delo z navedenimi metodami še nadalje razširiti in poglobiti. Ekstrakcija z metodo QuEChERS je lažja, hitrejša in uporablja manj nevarnih topil. Obstaja možnost, da bi se s takšno metodo prisotnost PCB-jev v belokranjskih rekah primerjala pogosteje, večkratne analize pa bi podale natančnejši trend padanja koncentracij.

Vesele smo, da ste bili del naše poti. Z nami ste obiskali veliko delov sveta, naredili dolg postanek v Beli krajini in na koncu opazovali naše raziskovanje v laboratorijih. Upamo, da ste med branjem našli kakšno razgledno točko tudi zase. Nalogo smo začele z mislijo: PCB ostaja, zavedanje pohaja. Misel je sedaj že za odtenek šibkejša, saj ste delček zavedanja z vašim branjem v sedanost popeljali prav vi. Hvala vam za to, da ste postali del naše zgodbe.



## 9 VIRI

- Bartlini, A., Munoz-Arnanz, J., Bains, M., Panti, C., Galli, M., Giani, D., . . . Jimenez, B. (15. maj 2020). Science of The Total Environment. *Relevance of current PCB concentrations in edible fish species from the Mediterranean Sea*.
- Bezek-Jakše, M. (26. junij 1992). Dolenjski list. *PCB je še vedno v Beli krajini*, str. 2.
- Čvančarová, M., Křesinová, Z., Filipová, A., Covino, S., & Cajthaml, T. (2012). Chemosphere, 88(11). *Biodegradation of PCBs by ligninolytic fungi and characterization of the degradation products*, str. 1317-1323.
- Deepak, D. (12. april 2013). Know your GC Chromatogram. Pridobljeno 20. junij 2020 iz <https://lab-training.com/2013/04/12/gas-chromatography-diagram/>
- Dercova, K., Balaž, Š., Haluška, L., Šturdik, E., Vozarova, K., Krupčík, J., . . . Bielek, P. (november 1993). World Journal of Microbiology and Biotechnology. *Degradation of Delor 103, a technical mixture of polychlorinated biphenyls, by selected bacteria, Volume 9*, str. 648-652. doi:10.1007/BF00369572
- Erickson, M. D. (2001). Introduction: PCB Properties, Uses, Occurrence, and Regulatory History. *PCBs: Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects*. University Press of Kentucky.
- FAO. (2006). CODE OF PRACTICE FOR THE PREVENTION AND REDUCTION OF DIOXINS, DIOXIN-LIKE PCBs AND NON-DIOXIN-LIKE PCBs IN FOOD AND FEED. Pridobljeno 30. december 2019 iz [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B62-2006%252FCXC\\_062e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B62-2006%252FCXC_062e.pdf)
- Gruden, M. (30. december 2019). *Izboljšanje finančno računovodskega poslovanja v podjetju Iskra Sistemi d.d. PE Kondenzatorji* (Diplomska naloga). Fakulteta za informacijske študije, Novo mesto.
- Harlander, D. (2005). *POSLEDICE VPLIVA PCB NA OKOLJE V BELI KRAJINI V LETU 2005 Poročilo za javnost*. Novo mesto.
- Harlander, D. (2011). *Posledice vpliva PCB na okolje v Beli krajini z oceno tveganja za zdrave ljudi zaradi uživanja doma pridelanih živil (jajca, mleko, perutnina) in rib iz reke Krupe, glede na vsebnost PCB*. Novo mesto. Pridobljeno 23. november 2019 iz <https://www.semic.si/files/other/news/119/186542Poročilo%20o%20stanju%20PCB.pdf>
- Hodak, I. (2003). *Električni kondenzator*. Pridobljeno 30. december 2019 iz [http://www.educa.fmf.uni-lj.si/izodel/sola/2002/di/Hodak/Elektricni\\_kondenzatorji/Index.html](http://www.educa.fmf.uni-lj.si/izodel/sola/2002/di/Hodak/Elektricni_kondenzatorji/Index.html)

- Hribar, P. (2008). Razvoj analitske metode za določanje vsebnosti polikloriranih bifenilov v divjačinskem mesu različnih lokacij. Ljubljana. Pridobljeno 30. december 2019 iz [http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn\\_hribar\\_polona.pdf](http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_hribar_polona.pdf)
- Hrovat, M., Mazej, D., Snaj Tratnik, J., Osredkar, J., Krsnik, M., Lapajne, S., . . . Kobal, A. B. (2010). *Monitoring kemikalij v organizmih 2007 - 2009*. Ministrstvo za zdravje R Slovenije, Urad R Slovenije za Kemikalije, Institut Jožef Stefan, Ljubljana.
- Ivanovič, M., Plut, D., & Polič, S. (brez datuma). Izvir reke Krupe. Pridobljeno 29. december 2019 iz <https://www.semic.si/objava/59821>
- Jan, J. (1997). *Vpliv polikloriranih bifenilov na zobni organ* (Magistrska naloga). Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana.
- Jan, J., Zupančič-Kralj, L., & Žigon, D. (januar 1994). Toxicological & Environmental Chemistry. *Residue profile of PCB, PCB and CBz in fish, algae, moss and sediment from the polluted river Krupa (Slovenia)*(43), str. 235-243. doi:10.1080/02772249409358035
- Kapp, R. W. (2014). *Encyclopedia of Toxicology*. Monroe Township, NJ: Elsevier.
- Krajinski park Lahinja. (brez datuma). *Reke in izviri*. Pridobljeno 2. maj 2020 iz Reke in izviri: [http://heritage.slovenia-heritage.si/?id\\_site=56#.XvcRD19xdhF](http://heritage.slovenia-heritage.si/?id_site=56#.XvcRD19xdhF)
- Lapajne, V. (2012). *PREGLEDNA OCENA STANJA OBREMENITEV OKOLJA S PCB V BELI KRAJINI, Z NJIMI POVEZANIH TVEGANJ ZA ZDRAVJE LJUDI, PREDLOG PRIPOROČIL IN UKREPOV ZA PREBIVALCE BELE KRAJINE IN ZA DRUGE DELEŽNIKE, POVEZANE S PREHRANO PREBIVALCEV. ELABORAT*. Maribor: MINISTRSTVO ZA KMETIJSTVO IN OKOLJE.
- Linde AG. (brez datuma). Electron capture detector. Pridobljeno 1. junij 2020 iz [http://hiq.linde-gas.com/en/images/Application%20sheet\\_Electron%20Capture%20Detector\\_tcm899-92471.pdf](http://hiq.linde-gas.com/en/images/Application%20sheet_Electron%20Capture%20Detector_tcm899-92471.pdf)
- McNair, H. M., & Miller, J. M. (1993). *Basic Gas Chromatography* (druga izd.). Wiley. Pridobljeno 1. junij 2020 iz <https://pdfs.semanticscholar.org/0f36/d2eebe9f97e4e90d3a2cec6135f7844535fe.pdf>
- Natura 2000. (brez datuma). *Delež območij Natura 2000 po občinah*. Pridobljeno 31. december 2019 iz Delež območij Natura 2000 po občinah\_2013: [http://www.natura2000.si/fileadmin/user\\_upload/novice/Delez\\_obmocij\\_Natura\\_2000\\_po\\_obcinah\\_2013\\_abc.pdf](http://www.natura2000.si/fileadmin/user_upload/novice/Delez_obmocij_Natura_2000_po_obcinah_2013_abc.pdf)
- NOAA. (25. junij 2018). What are PCBs? Pridobljeno 30. 12 2019 iz <https://oceanservice.noaa.gov/facts/pcbs.html>
- Nriagu, J. O. (2011). *Encyclopedia of Environmental Health* (druga izd.). Oxford, Združeno kraljestvo: Elsevier.

- Občina Semič. (29. december 2019). Pridobljeno iz Predstavitev občine:  
<https://www.semic.si/objave/175>
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Engel, R. G. (2006). *Introduction to Organic Laboratory Techniques: A Microscale Approach* (četrta izd.). (B. Cole, Ured.)
- Pessah, I. N., Cherednichenko, G., & Lein, P. J. (2010). Minding the calcium store: Ryanodine receptor activation as a convergent mechanism of PCB toxicity. *Volume 125*, str. 260-285. Pridobljeno 25. maj 2020 iz <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.10.009>
- Poole, C., & Cooke, M. (2000). *Encyclopedia of Separation Science* (prva izd.). Academic Press.
- Robertson, L. W., & Hansen, L. G. (Ured.). (2001). *PCBs: Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects*. Lexington, Kentucky: The University Press of Kentucky.
- Schettler, T., Solomon, G., Valenti, M., & Huddle, A. (1999). *Generations at risk: Reproductive Health and the Environment*. London: The MIT Press.
- Shields, W. J., Boehm, D. P., Bookspan, S., Brown, R. S., Chow, J. C., Corley, J., . . . Watson, J. G. (2015). *Introduction to Environmental Forensics* (tretja izd.). (B. L. Murphy, & R. D. Morrison, Ured.) San Diego: Academic Press.
- Sidisky, L., Baney, G., Stenerson, K., & Desorcie, J. L. (2011). Carrier Gas Selection for Capillary Gas Chromatography. Bellefonte, Pensilvanija. Pridobljeno 25. maj 2020 iz [https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/General\\_Information/1/t411126h.pdf](https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/General_Information/1/t411126h.pdf)
- Stockholm convention. (brez datuma). The 12 initial POPs under the Stockholm Convention. Pridobljeno 27. november 2019 iz <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/The12InitialPOPs/tabid/296/Default.aspx>
- TCAS. (brez datuma). Toxicology of TCDD and TCDF Dioxins. Pridobljeno 28. junij 2020 iz <http://experttoxicologist.com/toxicology-toxic-exposures-tcdd-dioxin.aspx>
- Tuomisto, J. (12. december 2019). Dioxins and dioxin-like compounds: toxicity in humans and animals, sources, and behaviour in the environment. WikiJournal of Medicine. Pridobljeno iz [https://en.wikiversity.org/wiki/WikiJournal\\_of\\_Medicine/Dioxins\\_and\\_dioxin-like\\_compounds:\\_toxicity\\_in\\_humans\\_and\\_animals,\\_sources,\\_and\\_behaviour\\_in\\_the\\_environment](https://en.wikiversity.org/wiki/WikiJournal_of_Medicine/Dioxins_and_dioxin-like_compounds:_toxicity_in_humans_and_animals,_sources,_and_behaviour_in_the_environment)
- UCLA. (1. april 2016). Gas Chromatography Theory. Pridobljeno 25. maj 2020 iz <http://www.chem.ucla.edu/~bacher/General/30BL/gc/theory.html>

UREDBA KOMISIJE (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih. (19. december 2006). Pridobljeno 1. julij 2020 iz <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=EN>

US Environmental Protection Agency. (19. januar 2017). Learn about Polychlorinated Biphenyls (PCBs). Pridobljeno 29. december 2019 iz <https://www.epa.gov/pcbs/learn-about-polychlorinated-biphenyls-pcbs#main-content>

WHO. (2003). Polychlorinated biphenyls: Human health aspect. Geneva. Pridobljeno 29. december 2019 iz <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42640/9241530553.pdf>

WHO. (2016). Safety evaluation of certain food additives and contaminants. *Supplement 1: Non-dioxin-like polychlorinated biphenyls*. Geneva, Švica. Pridobljeno 4. januar 2020 iz <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246225/9789241661713-eng.pdf?sequence=1>

Wiegel, J., & Wu, Q. (1. april 2000). FEMS Microbiology Ecology. *Microbial reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls* (prva izd), Volume 32, str. 1-15. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2000.tb00693.x>

Zadnik, V., Ivanuš, U., & Primic Žakelj, M. (2011). *Geografska analiza incidence raka v Beli krajini in okolici, Ugotavljanje morebitnega presežka incidence raka zaradi izpostavljenosti PCB-jem*. Onkološki inštitut Ljubljana, Epidemiologija in register raka.

## 10 PRILOGE

### PRILOGA 1: Pregled rezultatov monitoringa PCB v doma pridelanih živil in ribah iz reke Lahinje in reke Krupe v letu 2010

Zap. št.	Izomere	Lahinja 1. 000 m nad izlivom Krupe v Lahinjo		Lahinja 1. 500 m pod izlivom Krupe v Lahinjo (nad mostom v Geršičih)					
		Vzorec: 3802/2010, odvzem: 28.10.2010		Vzorec: 3803/2010, odvzem: 28.10.2010					
		sestavljani vzorec iz dveh platnic: teža 120 g, velikost 21 cm, starost 1 - 2 leti; teža 140 g, velikost 22 cm, starost 1 - 2 leti.		sestavljani vzorec iz dveh platnic: teža 480g, velikost 33 cm, starost 5 let; teža 780g, velikost 39 cm, starost 12 let.					
Enota		PCB TEO		Enota		PCB TEO			
		pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže				
1	PCB-28 (2,4,4'-Trihlorobifenil)	11.600		14.200					
2	PCB-52 (2,2',5,5'-Tetraklorobifenil)	39.800		69.900					
3	PCB-77 (3,3',4,4'-Tetraklorobifenil)	66.500	6,65	127.000	12,70				
4	PCB-101 (2,2',4,5,5'-Pentaklorobifenil)	62.300		99.900					
5	PCB-105 (2,3,3',4,4'-Pentaklorobifenil)	22.000	2,20	46.600	4,66				
6	PCB-114 (2,3,4,4',5-Pentaklorobifenil)	2.240	1,12	450	0,23				
7	PCB-118 (2,3',4,4',5-Pentaklorobifenil)	47.200	4,72	104.000	10,40				
8	PCB-123 (2',3,4,4',5-Pentaklorobifenil)	14.600	1,46	30.200	3,02				
9	PCB-126 (3,3',4,4',5-Pentaklorobifenil)	4.400	440,00	5.400	540,00				
10	PCB-138 (2,2',3,4,4',5'-Heksaklorobifenil)	52.300		69.900					
11	PCB-153 (2,2',4,4',5,5'-Heksaklorobifenil)	43.100		65.300					
12	PCB-156 (2,3,3',4,4',5-Heksaklorobifenil)	5.230	2,62	6.740	3,37				
13	PCB-157 (2,3,3',4,4',5'-Heksaklorobifenil)	3.440	1,72	280	0,14				
14	PCB-167 (2,3',4,4',5,5'-Heksaklorobifenil)	9.510	0,10	13.300	0,13				
15	PCB-169 (3,3',4,4',5,5'-heksaklorobifenil)	<20		<20					
16	PCB-170 (2,2',3,3',4,4',5-Heptaklorobifenil)	2.530		2.870					
17	PCB-180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptaklorobifenil)	6.240		4.900					
18	PCB-189 (2,3,3',4,4',5,5'-Heptaklorobifenil)	<20		<20					
19	PCB-81 (3,4,4',5-Tetraklorobifenil)	27.900	2,79	45.100	4,51				
<b>VSOTA IZOMER</b>		420.890	463,37	706.040	579,16				
<b>VSOTA IZOMER 101/118/138/153/180/28/52</b>		262.540	4,72	428.100	10,40				
<b>VSOTA VSEH PCB</b>		593.000		937.000					

Zap. št.	Izomere	Pod jezom na izviru Krupe						Krupa pod jezom pri Perovem mlinu (Stranska vas)	
		Vzorec: 3798/2010, odvzem: 23.10.2010		Vzorec: 3799/2010, odvzem: 23.10.2010		Vzorec: 3913/2010, odvzem: 10.6.2010		Vzorec: 3804/2010, odvzem: 9.6.2010	
		Potočna postrv teža 280g, velikost 31cm, starost 4 - 5 let		Potočna postrv teža 440g, velikost 27 cm, starost 2 leti		sestavljani vzorec iz treh klenov: teža 181g, velikost 23cm, starost 3leta; teža 107g, velikost 19cm, starost 2leti; teža 191g, velikost 19,5cm, starost 2-3leta.		Klen: teža 160g, velikost 20cm, starost 3 leta	
		Enota	PCB TEO	Enota	PCB TEO	Enota	PCB TEO	Enota	PCB TEO
	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	pg/g mokre teže	
1	PCB-28 (2,4,4'-Triklorobifenil)	210.000		100.200		230.800		21.700	
2	PCB-52 (2,2',5,5'-Tetraklorobifenil)	720.000		285.300		607.000		103.800	
3	PCB-77 (3,3',4,4'-Tetraklorobifenil)	1.200.000	120,00	408.300	40,83	664.800	66,48	395.000	39,50
4	PCB-101 (2,2',4,5,5'-Pentaklorobifenil)	1.140.000		376.900		693.000		401.700	
5	PCB-105 (2,3,3',4,4'-Pentaklorobifenil)	498.000	49,80	192.000	19,20	219.700	21,97	165.400	16,54
6	PCB-114 (2,3,4,4',5-Pentaklorobifenil)	20.500	10,25	17.800	8,90	22.380	11,19	10.900	5,45
7	PCB-118 (2,3',4,4',5-Pentaklorobifenil)	1.450.000	145,00	565.400	56,54	472.000	47,20	397.400	39,74
8	PCB-123 (2',3,4,4',5-Pentaklorobifenil)	130.000	13,00	31.600	3,16	145.900	14,59	79.200	7,92
9	PCB-126 (3,3',4,4',5-Pentaklorobifenil)	46.000	4.600,00	15.600	1.560,00	43.980	4.398,00	31.900	3.190,00
10	PCB-138 (2,2',3,4,4',5'-Heksaklorobifenil)	719.000		282.800		523.000		530.600	
11	PCB-153 (2,2',4,4',5,5'-Heksaklorobifenil)	642.000		221.000		431.000		403.100	
12	PCB-156 (2,3,3',4,4',5-Heksaklorobifenil)	75.500	37,75	15.200	7,60	52.300	26,15	64.200	32,10
13	PCB-157 (2,3,3',4,4',5'-Heksaklorobifenil)	2.120	1,06	14.200	7,10	34.400	17,20	1.600	0,80
14	PCB-167 (2,3',4,4',5,5'-Heksaklorobifenil)	130.000	1,30	39.800	0,40	95.100	0,95	95.700	0,96
15	PCB-169 (3,3',4,4',5,5'-heksaklorobifenil)	<20		<20		<20		<20	
16	PCB-170 (2,2',3,3',4,4',5-Heptaklorobifenil)	27.600		30.100		25.300		28.100	
17	PCB-180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptaklorobifenil)	63.600		9.470		62.400		63.600	
18	PCB-189 (2,3,3',4,4',5,5'-Heptaklorobifenil)	<20		<20		<20		<20	
19	PCB-81 (3,4,4',5-Tetraklorobifenil)	456.000	45,60	145.400	14,54	279.100	27,91	181.800	18,18
<b>VSOTA IZOMER</b>		7.530.320	5.023,76	2.751.070	1.718,27	4.602.160	4.631,64	2.975.700	3.351,19
<b>VSOTA IZOMER(101/118/138/153/180/28/52)</b>		4.944.600	145,00	1.841.070	56,54	3.019.200	47,20	1.921.900	39,74
<b>VSOTA VSEH PCB</b>		9.392.000		3.838.000		6.647.000		3.651.000	

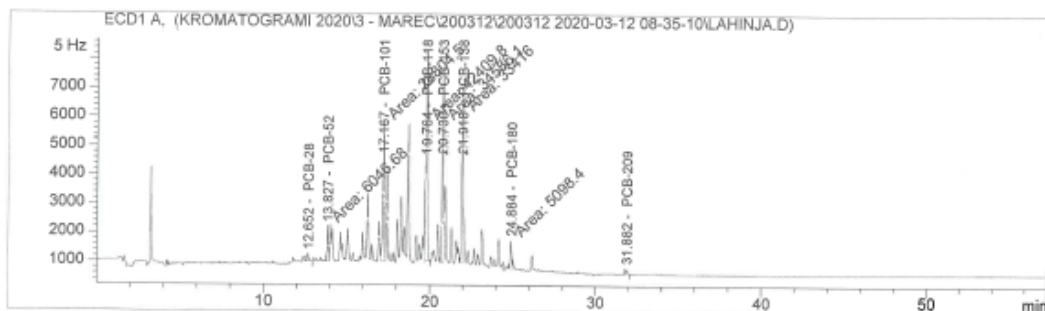
## PRILOGA 2: Kromatogrami vzorcev – primer iz Lahinje in Krupe

Data File C:\CHEM32\...ATOGRAMI 2020\3 - MAREC\200312\200312 2020-03-12 08-35-10\LAHINJA.D  
 Sample Name: 15,08g / 200uL Lahinja 100xR

```

=====
Acq. Operator   : Jernej in Jure                      Seq. Line :    7
Acq. Instrument : GC-ECD 6890                          Location  : Vial 7
Injection Date  : 12-Mar-20, 17:24:11                 Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl

Acq. Method    : C:\Chem32\1\DATA\Kromatogrami 2020\3 - Marec\200312\200312 2020-03-
                12 08-35-10\PCB ODP.M
Last changed   : 3/10/2020 8:16:01 AM by Jernej in Jure
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\PCBUK28012020Q1.M
Last changed   : 4/21/2020 11:30:46 AM by Jernej in Jure
                (modified after loading)
Method Info    : PCB ISO15308
  
```



### Internal Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 4/21/2020 11:30:51 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Sample ISTD Information:

ISTD #	ISTD Amount [ug/ml]	Name
1	1.00000e-1	PCB-209

Signal 1: ECD1 A,

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [5 Hz*s]	Amt/Area ratio	Amount [ug/ml]	Grp	Name
12.573		1	-	-	-		PCB-31
12.652	BB	1	1483.20874	1.23722	2.24860e-1		PCB-28
13.827	MF	1	6046.68164	2.23278	1.65434		PCB-52
17.167	MF	1	2.88045e4	1.07068	3.77906		PCB-101
19.764	FM	1	4.24098e4	6.98966e-1	3.63233		PCB-118
20.730	MF	1	3.45861e4	6.59126e-1	2.79339		PCB-153
21.918	MM	1	3.34160e4	7.45643e-1	3.05315		PCB-138
24.884	MF	1	5098.40381	5.84724e-1	3.65298e-1		PCB-180
31.882	BB	I	1 816.08911	1.00000	1.00000e-1		PCB-209

Totals without ISTD(s) : 15.50243

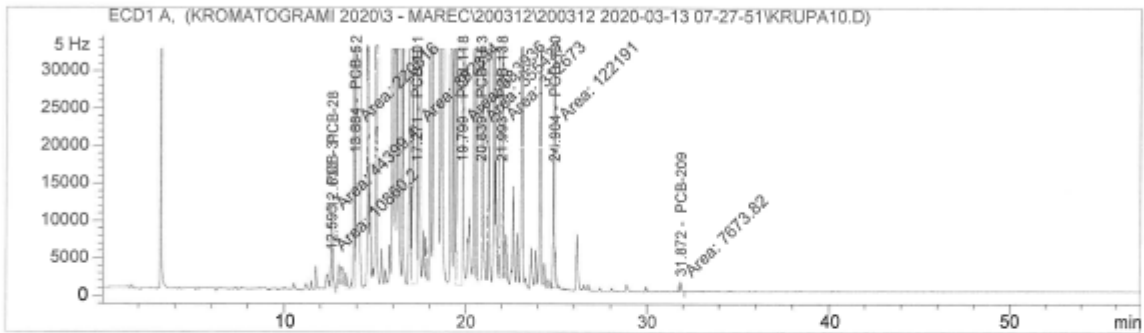
2 Warnings or Errors :



Data File C:\CHEM32\...\ATOGRAMI 2020\3 - MAREC\200312\200312 2020-03-13 07-27-51\KRUPA10.D  
 Sample Name: 15,01g / 200uL Krupa+std 10xR

```

=====
Acq. Operator   : Jernej in Jure                      Seq. Line : 25
Acq. Instrument : GC-ECD 6890                          Location  : Vial 24
Injection Date  : 14-Mar-20, 02:12:38                  Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 1 µl
Acq. Method     : C:\Chem32\1\DATA\Kromatogrami 2020\3 - Marec\200312\200312 2020-03-13 07-27-51\PCB ODP.M
Last changed    : 3/10/2020 8:16:01 AM by Jernej in Jure
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\PCBUK28012020Q1.M
Last changed    : 4/21/2020 12:18:44 PM by Jernej in Jure
                  (modified after loading)
Method Info     : PCB ISO15308
  
```



Internal Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 4/21/2020 11:30:51 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Sample ISTD Information:

ISTD ISTD Amount Name

#	[ug/ml]	Name
1	1.00000e-1	PCB-209

Signal 1: ECD1 A,

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [5 Hz*s]	Amt/Area ratio	Amount [ug/ml]	Grp	Name
12.595	MF	1	1.08602e4	3.24456	4.59180e-1		PCB-31
12.636	FM	1	4.43994e4	1.23722	7.15834e-1		PCB-28
13.884	MF	1	2.20516e5	2.23278	6.41613		PCB-52
17.271	MM	1	3.92834e5	1.07068	5.48098		PCB-101
19.799	MM	1	5.83936e5	6.98966e-1	5.31875		PCB-118
20.839	MM	1	3.55437e5	6.59126e-1	3.05295		PCB-153
21.993	MM	1	3.12673e5	7.45643e-1	3.03816		PCB-138
24.904	MM	1	1.22191e5	5.84724e-1	9.31061e-1		PCB-180
31.872	FM	I	7673.82324	1.00000	1.00000e-1		PCB-209

Totals without ISTD(s) : 25.41304

1 Warnings or Errors :