



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

## STANOVENÍ OBSAHU ORGANICKÝCH SLOUČENIN V PEVNÉM UHLÍKATÉM ZBYTKU

DETERMINATION OF CONTENT OF ORGANIC COMPOUNDS IN BIOCHAR

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Martina Novotná

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2020

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1465/2019 Akademický rok: 2019/20  
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Studentka: **Bc. Martina Novotná**  
Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Stanovení obsahu organických sloučenin v pevném uhlíkatém zbytku

### Zadání diplomové práce:

1. Vypracování literární rešerše zaměřené na možnosti charakterizace organických látek skupiny PAH, PCB a PCDD/F v pevném uhlíkatém zbytku.
2. Návrh optimální metody analýzy s přihlédnutím k dostupné analytické instrumentaci.
3. Analýza reálných vzorků a interpretace výsledků.

### Termín odevzdání diplomové práce: 31.7.2020:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

---

Bc. Martina Novotná  
student(ka)

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.  
vedoucí práce

doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

---

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Biouhel vzniká pyrolýzou organické biomasy. Jeho přidavkem do půdy lze vylepšit její vlastnosti.

U biouhlů vyrobených z čistírenského kalu bývá velmi rozmanité složení. Je to způsobeno velkou rozdílností vstupních materiálů. Organické znečišťující sloučeniny se na jeho povrch mohou sorbovat při procesu ochlazování během procesu pyrolýzy. Po uvolnění do životního prostředí tyto látky mohou způsobovat např. inhibici růstu rostlin, dostávat se do potravních řetězců a negativně působit na živé organismy.

Nejčastěji bývají organické polutanty po extrakci organickým rozpouštědlem stanoveny pomocí GC/MS.

## **ABSTRACT**

Biochar is created during the pyrolysis of organic biomass. Once added into the soil, it can improve its features.

Biochars made from sewage sludge have various compositions. It is because of the vast difference between entrance materials. Organic pollutants can be absorbed into its surface during the cooling proces sof pyrolysis. If released into the enviroment, these compounds can cause inhibition of plant growth, get into food chains and adversely affect living organisms.

Organic pollutans are determined most often by GC/MS after organic solvent extraction.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Polycyklické aromatické uhlovodíky, Polychlorované bifenyly, Dioxiny, Biouhel, Extrakce, GC/MS, GC/MSMS

## **KEY WORDS**

Polycyclic aromatic hydrocarbons, Polychlorinated biphenyls, Dioxins, Biochar, Extraction, GC/MS, GC/MSMS

NOVOTNÁ, Martina. *Stanovení obsahu organických sloučenin v pevném uhlíkatém zbytku*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124040>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Ludmila Mravcová.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce Ing. Ludmile Mravcové Ph.D. za ochotu, odborné vedení, pomoc při realizaci experimentální části diplomové práce, konzultace při zpracování výsledků a řešení všech problémů s přístroji v laboratoři.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině a lidem v blízkém okolí za podporu a trpělivost i ve chvílích, kdy se nedařilo.

Strukturní vzorce, u kterých není uveden zdroj, byly vytvořeny autorem práce v programu Chemsketch. Fotografie aparatur a přístrojů byly pořízeny během měření.

## OBSAH

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | Seznam použitých zkratk.....                                 | 9  |
| 1.1   | Seznam použitých jednotek .....                              | 10 |
|       | Teoretická část .....  | 11 |
| 2     | Úvod.....  | 11 |
| 3     | Charakteristika pevného uhlíkatého zbytku .....              | 12 |
| 3.1   | Vlastnosti biouhlu .....                                     | 12 |
| 3.1.1 | Chemické vlastnosti .....                                    | 12 |
| 3.1.2 | Fyzikální vlastnosti .....                                   | 13 |
| 3.2   | Výroba biouhlu.....  | 14 |
| 3.2.1 | Vhodné suroviny .....  | 14 |
| 3.2.2 | Technologie výroby.....                                      | 14 |
| 3.3   | Certifikace biouhlu .....                                    | 15 |
| 3.3.1 | Vstupní materiál.....  | 15 |
| 3.3.2 | Složení produktu .....                                       | 15 |
| 3.3.3 | Škodlivé látky v produktu.....                               | 16 |
| 3.3.4 | Proces pyrolýzy.....   | 16 |
| 3.3.5 | Šarže .....  | 16 |
| 3.4   | Stanovení kritérií pro biouhel přidávaný do půdy.....        | 17 |
| 3.5   | Využití biouhlu v půdě .....                                 | 18 |
| 3.5.1 | Vliv biouhlu na půdu.....                                    | 18 |
| 3.5.2 | Vliv biouhlu na rostliny.....                                | 18 |
| 3.6   | Remediační vlastnosti biouhlu .....                          | 18 |
| 4     | Charakteristika skupin stanovovaných organických látek ..... | 19 |
| 4.1   | Zdroje organických polutantů v biouhlu .....                 | 19 |
| 4.2   | Polychlorované bifenyly (PCB) .....                          | 19 |
| 4.2.1 | Vlastnosti polychlorovaných bifenyly.....                    | 19 |
| 4.2.2 | Využití polychlorovaných bifenyly.....                       | 20 |
| 4.2.3 | Výroba polychlorovaných bifenyly.....                        | 20 |
| 4.2.4 | Polychlorované bifenyly v životním prostředí.....            | 20 |
|       | 2,3',4,4',5-Pentachlorobifenyl .....                         | 21 |
| 4.2.5 | Polychlorované bifenyly během pyrolýzy .....                 | 22 |
| 4.2.6 | Toxicita polychlorovaných bifenyly .....                     | 22 |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 4.2.7  | Působení polychlorovaných bifenyly na živé organismy .....                       | 22 |
| 4.2.8  | Působení polychlorovaných bifenyly na člověka .....                              | 22 |
| 4.2.9  | Zaznamenané otravy polychlorovanými bifenyly .....                               | 22 |
| 4.2.10 | Limity pro polychlorované bifenyly v životním prostředí .....                    | 23 |
| 4.3    | Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) .....                                   | 24 |
| 4.3.1  | Vlastnosti polycyklických aromatických uhlovodíků .....                          | 24 |
| 4.3.2  | Využití polycyklických aromatických uhlovodíků .....                             | 24 |
| 4.3.3  | Zdroje polycyklických aromatických uhlovodíků .....                              | 24 |
| 4.3.4  | Polycyklické aromatické uhlovodíky v životním prostředí .....                    | 25 |
| 4.3.5  | Polycyklické aromatické uhlovodíky během procesu pyrolýzy .....                  | 26 |
| 4.3.6  | Polycyklické aromatické uhlovodíky v biouhlu .....                               | 26 |
| 4.3.7  | Toxicita polycyklických aromatických uhlovodíků .....                            | 27 |
| 4.3.8  | Působení polycyklických aromatických uhlovodíků na živé organismy .....          | 27 |
| 4.3.9  | Působení polycyklických aromatických uhlovodíků na člověka .....                 | 27 |
| 4.3.10 | Limity pro polycyklické aromatické uhlovodíky v životním prostředí .....         | 27 |
| 4.4    | Polychlorované dibenzofurany (PCDF) a polychlorované dibenzodioxiny (PCDD) ..... | 30 |
| 4.4.1  | Vlastnosti dioxinů .....   | 30 |
| 4.4.2  | Zdroje dioxinů .....   | 30 |
| 4.4.3  | Dioxiny v životním prostředí .....   | 30 |
| 4.4.4  | Dioxiny během procesu pyrolýzy .....   | 30 |
| 4.4.5  | Toxicita dioxinů .....   | 31 |
| 4.4.6  | Působení dioxinů na člověka .....  | 31 |
| 4.4.7  | Zaznamenané otravy dioxiny .....   | 31 |
| 4.4.8  | Limity pro dioxiny v životním prostředí .....                                    | 31 |
| 5      | analytické metody .....  | 33 |
| 5.1    | Extrakce .....   | 33 |
| 5.1.1  | Extrakce podporovaná tlakem (PSE) .....  | 33 |
| 5.2    | Extrakce biouhlu využívané v praxi .....   | 33 |
| 5.2.1  | Extrakce PCB .....   | 34 |
| 5.2.2  | Extrakce PAU .....   | 34 |
| 5.2.3  | Extrakce dioxinů .....   | 35 |
| 5.3    | Separační metody – chromatografie .....  | 36 |
| 5.3.1  | Plynová chromatografie (GC) .....  | 36 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5.4   | Metody využití pro identifikaci látek.....                               | 36 |
| 5.4.1 | Hmotnostní spektrometrie (MS) .....                                      | 36 |
| 5.4.2 | Metody snímání.....  | 37 |
| 5.4.3 | Tandemová technika GC/MS.....  | 38 |
| 5.4.4 | Tandemová hmotnostní spektrometrie (MSMS).....                           | 38 |
| 5.5   | Metody stanovení organických látek v biouhlu ve studiích .....           | 39 |
| 5.5.1 | Stanovení PCB .....  | 39 |
| 5.5.2 | Stanovení PAU.....   | 39 |
| 5.5.3 | Stanovení dioxinů.....   | 39 |
| 6     | Metody pro stanovení organických látek v biouhlu využívané v praxi ..... | 40 |
| 6.1   | Metody využívané pro stanovení PCB .....                                 | 40 |
| 6.1.1 | Pracovní postupy metod .....   | 40 |
| 6.2   | Metody využívané pro stanovení PAU.....                                  | 40 |
| 6.2.1 | Pracovní postupy metod .....   | 40 |
| 6.3   | Metody využívané pro stanovení PCDD a PCDF.....                          | 41 |
| 6.3.1 | Pracovní postupy metod .....   | 41 |
| 7     | Experimentální část.....   | 43 |
| 7.1   | Zkoumané vzorky.....   | 43 |
|       | • doba ozařování: 60 min .....   | 43 |
| 7.1.1 | Vzorek číslo 214 193.....  | 43 |
| 7.1.2 | Vzorek číslo 114 210.....  | 43 |
| 7.1.3 | Vzorek číslo 214 210.....  | 43 |
| 7.1.4 | Prekurzor 300.....   | 43 |
| 7.2   | Přístroje a software.....  | 44 |
| 7.3   | Použité chemikálie .....   | 44 |
| 7.3.1 | Zásobní roztoky.....   | 44 |
| 7.3.2 | Rozpouštědla.....  | 45 |
| 7.3.3 | Technické plyny .....  | 45 |
| 7.4   | Pracovní postupy .....   | 45 |
| 7.4.1 | Kalibrační křivka.....   | 45 |
| 7.4.2 | Příprava vzorků.....   | 46 |
| 7.4.3 | Extrakce vzorků .....  | 46 |
| 7.4.4 | Čištění vzorků pomocí sloupcové chromatografie.....                      | 49 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 7.4.5 | Plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS) ..... | 50 |
| 7.5   | Výsledky a diskuze.....   | 61 |
| 7.5.1 | Regresní rovnice kalibračních přímek .....                      | 61 |
| 7.5.2 | Limity detekce a kvantifikace.....                              | 64 |
| 7.5.3 | Stanovené koncentrace .....                                     | 65 |
| 8     | Závěr .....   | 85 |
| 9     | Literatura.....   | 86 |
| 10    | Příloha .....   | 95 |
| 10.1  | Bruker.....   | 95 |
| 10.2  | Pegasus.....  | 98 |



# 1 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

|                    |  |
|--------------------|--|
| AMU                | Atomová hmotnostní konstanta   |
| ASTM               | Americká společnost pro testování a materiály (American Society for Testing and Materials)               |
| C:H                | Poměr uhlíku a vodíku  |
| CO <sub>2</sub>    | Oxid uhličitý  |
| ČOV                | Čistírna odpadních vod   |
| DCM                | Dichlormethan  |
| DIN                | Německá národní norma (Deutsche Industrie-Norm)  |
| EBC                | Evropský certifikát biouhlu (European Biochar Certificate)   |
| EHS                | Evropské hospodářské společenství  |
| EN                 | Evropské normy   |
| ES                 | Evropská směrnice  |
| GC/MS              | Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií  |
| GC/MSMS            | Plynová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií   |
| GC-ECD             | Plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu  |
| GC/HRMS            | Plynová chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií                                      |
| H:C <sub>org</sub> | Poměr vodíku k organickému uhlíku  |
| HRMS               | Vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie   |
| HxCDD              | Hexachlorovaný dibenzodioxin   |
| IBI                | Mezinárodní iniciativa pro biouhel (International Biochar Initiative)                                    |
| ICP                | Indukčně vázané plazma   |
| ISO                | Mezinárodní organizace pro normalizaci (International Organization for Standardization)                  |
| KCl                | Chlorid draselný   |
| LOD                | Limit detekce  |
| LOQ                | Limit kvantifikace   |
| MS                 | Hmotnostní spektrometrie   |
| MSMS               | Tandemová hmotnostní spektrometrie   |
| MŽP                | Ministerstvo životního prostředí   |
| OECD               | Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (Organisation for Economic Co-operation and Development) |
| PAU                | Polycyklické aromatické uhlovodíky   |
| PCB                | Polychlorované bifenoly  |
| PCDD               | Polychlorované dibenzodioxiny  |
| PCDF               | Polychlorované dibenzofurany   |
| PSE                | Extrakce za zvýšeného tlaku (Pressurized Solvent Extraction)   |
| SIM                | Monitorování vybraných iontů (Selected Ion Monitoring)   |
| SPME               | Mikroextrakce na tuhou fázi  |
| T                  | Teplota  |
| TCDD               | Tetrachlorovaný dibenzodioxin  |
| TEF                | Faktor ekvivalentu toxicity  |
| TEQ                | Ekvivalent toxicity  |

|        |  |
|--------|--|
| TMECC  | Testovací metoda pro zkoumání kompostování a kompostu (Test Method for the Examination of Composting and Compost)                                |
| TOF    | Analyzátor doby letu iontu (Time of flight)  |
| TÜV    | Technické kontrolní sdružení (Technischer Überwachungs-Verein)   |
| US EPA | Americká společnost pro ochranu životního prostředí (United States Environmental Protection Agency)  |
| VDLUFA | Asociace německých zemědělských vyšetřovacích a výzkumných ústavů (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs und Forschungsanstalten) |
| WHO    | Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)  |

### 1.1 Seznam použitých jednotek

|                   |   |
|-------------------|---|
| °C                | Stupeň Celsia                               |
| µg/l              | Mikrogram na litr                           |
| bar               | Jednotka tlaku                              |
| Da                | Dalton                                      |
| g/mol             | Gram na mol                                 |
| g/t               | Gram na tunu                                |
| Hz                | Hertz                                       |
| Km                | Kilometr                                    |
| M                 | Jednotka koncentrace (mol/dm <sup>3</sup> ) |
| m <sup>2</sup> /g | Metr čtvereční na gram                      |
| mg/kg             | Miligram na kilogram                        |
| mg/l              | Miligram na litr                            |
| mg/m <sup>3</sup> | Miligram na metr krychlový                  |
| ml/min            | mililitr za minutu                          |
| mm                | Milimetr                                    |
| MPa               | Megapascal                                  |
| ng/kg             | Nanogram na kilogram                        |
| ng/m <sup>3</sup> | Nanogram na metr krychlový                  |
| V                 | Volt  |
| µg/l              | Mikrogram na litr                           |
| µl                | Mikrolitr                                   |

# TEORETICKÁ ČÁST

## 2 ÚVOD

V současné době se čím dál více řeší problematika nakládání s odpadními materiály a je snaha o jejich opětovné využití. Velký potenciál opětovného využití má čistírenský kal, kterého vzniká čím dál větší množství během celého roku, je to způsobeno kvalitou života a rostoucím počtem čistíren odpadních vod.

Čistírenské kaly (vznikající odpad po procesu čištění odpadních vod) obsahují velké množství těžkých kovů, organických polutantů, mikroorganismů aj., jejich hromadění by při špatném zacházení mohlo způsobit sekundární znečištění.

Tento čistírenský kal je po dostatečném zahuštění, odvodnění a hygienizaci buďto uložen na skládky odpadu, kompostován nebo je dále energeticky či materiálově využit. Kal je možné zpracovávat přímo na čistírně odpadních vod, kde je vyrobená energie následně spotřebována. Zpracovává se buďto spalováním – monospalování nebo spoluspalování (např. v cementárnách) nebo zplyňováním.

Další možností je zpracovat čistírenský kal tak, aby se nově získaný materiál mohl dále využít. Během procesu pyrolýzy je získáván biouhel (pevný uhlíkatý zbytek), bioolej a syngas. Syngas lze využít pro vyhřátí celého systému pyrolýzy, bioolej je využíván jako palivo 2. generace a biouhel lze aplikovat do půdy pro zlepšení jejích vlastností a také jako hnojivo.

Aby ovšem mohl být biouhel aplikován do půdy musí splňovat určitá kritéria, nesmí obsahovat škodlivé látky ve vyšších koncentracích. V biouhlu vyrobeném pyrolýzou čistírenského kalu bývá koncentrace např. těžkých kovů, chlorovaných organických látek nebo polycyklických aromatických látek vyšší, než u biouhlu vyrobeného z ostatní biomasy.

### 3 CHARAKTERISTIKA PEVNÉHO UHLÍKATÉHO ZBYTKU

Pro pevný uhlíkatý zbytek jsou využívány také názvy biouhel nebo biochar. Existuje více definic, ve kterých je pojem biouhel popsán. První popisuje biouhel jako pevný materiál, který byl získán během procesu karbonizace. Karbonizace je proces termochemické přeměny biomasy v prostředí s omezeným přístupem kyslíku a při teplotě do 700 °C. Biouhel je vyráběn např. ze dřeva, hnoje, listí nebo čistírenského kalu. Další definice uvádí, že biouhel obsahuje zejména stabilní aromatické formy organického uhlíku, které nemohou být tak snadno za příznivých podmínek vráceny do atmosféry ve formě CO<sub>2</sub> na rozdíl od uhlíku obsaženého v původní surovině [1, 2].

#### 3.1 Vlastnosti biouhlu

Hlavními faktory, které ovlivňují výsledné fyzikálně-chemické vlastnosti získaného biouhlu, jsou výchozí surovina a teplota pyrolýzy. Na teplotě během pyrolýzy závisí výtěžek, obsah uhlíku v biouhlu a velikost jeho povrchu. Například ve studii, kterou provedl Yasuyuki Okimori a kolektiv bylo zjištěno, že se při zvyšování teploty v rozmezí 300 až 800 °C zvýšil obsah uhlíku z 56 % na 93 %, naopak výtěžek pyrolýzy klesl z 67 % na 26 %. Při dalším zvyšování teploty dochází ke snižování výtěžnosti, ale obsah uhlíku se již dále nezvyšuje. Ke snižování výtěžnosti dochází v důsledku toho, že se při vyšších teplotách rozkládá větší množství organických látek. Velikost povrchu se se vzrůstající teplotou zvětšuje, např. při zvýšení teploty ze 400 °C na 900 °C se povrch zvětšil ze 120 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup> až na 460 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup> [3, 4].

Podle plánovaného využití biouhlu je volen výchozí materiál a teplota pyrolýzy. Biouhly vzniklé za nižší teploty jsou vhodné díky vyšší retenci pro pomalejší uvolňování živin do půdy, zato biouhly vzniklé při vysoké teplotě mají vyšší sorpční povrch, ale nižší schopnost zadržovat látky [4, 5].

U biouhlu jsou především sledovány následující vlastnosti: pH, obsah těkavých sloučenin, obsah popílku, kapacita zadržování vody, sypná hustota, objem pórů a specifický povrch [3]. Vlastnosti biouhlu lze rozdělit na chemické a fyzikální, které lze stanovit pomocí např. spektrálních metod. Jejich znalost umožní lépe poznat mechanismy jednotlivých procesů [6]. Jednotlivé čistírenské kaly se však od sebe velmi liší svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, a tak je komplikované souhrnné hodnocení vlastností vyrobených biouhlů. Vlastnosti získaného produktu jsou závislé na obsahu celkového organického uhlíku ve vstupním materiálu [7].

##### 3.1.1 Chemické vlastnosti

Chemické vlastnosti je vhodné znát pro získání znalostí o mechanismu stárnutí a funkcí biouhlu. Patří sem např. pH nebo poměrové zastoupení prvků (O:C, O:H, C:H) a pH [6].

Bylo zjištěno, že pH se oproti vstupnímu materiálu zvyšuje a rozdíl hodnot pH se zvyšuje s rostoucí teplotou pyrolýzy. Proces zvýšení pH je způsoben kondenzačními reakcemi alifatických sloučenin, které probíhají více při vyšších teplotách a dehydratací suroviny, kdy dochází k úbytku kyselých skupin na povrchu. Při pyrolýze do 500 °C vzniká biouhel s neutrálním pH, při vyšších teplotách má pH zásadité a není závislé na pH vstupního materiálu [7, 8].

Obsah vodíku, dusíku a kyslíku se během pyrolýzy snižuje. Nejvíce dochází k poklesu obsahu vodíku a kyslíku, kdy byl obsah těchto prvků v biouhlu vyrobeném z čistírenského kalu

snížen vzhledem ke vstupnímu materiálu až o 90 %. Větší změny v obsahu prvků byly zjištěny při vyšší teplotě během pyrolýzy. Na rozdíl od biouhlu z ostatní biomasy, kdy se obsah uhlíku během pyrolýzy zvyšuje, u produktu pyrolýzy čistírenského kalu je většinou zaznamenán jeho pokles [7].

### 3.1.2 Fyzikální vlastnosti

Pomocí fyzikálních vlastností lze sledovat změny biouhlu po jeho aplikaci do půdy, např. zrnitostní složení, velikost aktivního povrchu aj. Mezi fyzikální vlastnosti patří např. obsah vlhkosti, popela, objemová hustota, pórovitost, distribuce velikosti částic aj. [6].

Během procesu pyrolýzy dochází ke zvýšení obsahu popela oproti vstupní biomase, čím je teplota během pyrolýzy vyšší, tím je rozdíl větší. Zvyšování obsahu popela je způsobeno tím, že v biouhlu zůstávají přítomny netěkavé minerální složky, které tvoří popel, zatímco těkavé látky jsou odstraněny. U produktů vyrobených z čistírenského kalu byl zaznamenán vyšší obsah popela (okolo 75 %), je to způsobeno složitostí kalů a rozmanitostí obsažených látek [7].

Při využití vyšší teploty během pyrolýzy jsou u získaného produktu sledovány menší krystaly a pravidelné uhlíkové kruhy [7].

Změny v porézni struktuře výchozího materiálu a produktu pyrolýzy lze sledovat např. pomocí adsorpčních a desorpčních izoterm dusíku. Během pyrolýzy se pórovitost materiálu zvyšuje, např. čistírenské kaly mají velmi nízkou porozitu, kdy je sledována nízká adsorpce dusíku. Typický tvar pórů pro uhlíkové absorbenty je tzv. štěrbinovitý tvar. Bylo prokázáno, že se zvyšující se teplotou pyrolýzy klesá zvětšení povrchu plochy, může to být způsobeno rostoucími slinovacími procesy a vyšším obsahem popela, který blokuje póry. Větší povrch zaručuje vyšší sorpci chemických látek [7].



Obrázek 1: Snímek struktury biouhlu pod elektronovým mikroskopem [9]

## 3.2 Výroba biouhlu

### 3.2.1 Vhodné suroviny

Pro výrobu biouhlu je využívána biomasa z odpadních materiálů. Vhodné materiály jsou např. zbytky plodin, odpady z lesů a zahrad, zbytky potravin, živočišný hnůj, čistírenský kal aj. V současné době je většina této biomasy spálena nebo ponechána k rozkladu, kdy se uvolňuje metan a CO<sub>2</sub> zpět do atmosféry. Ovšem u volně ponechané biomasy je riziko, že může znečistit povrchové a podpovrchové vody. Biouhel lze také získávat jako vedlejší produkt výroby energie z biomasy [1, 10].

Složení výchozích surovin značně ovlivňuje kvalitu a složení vyrobeného biouhlu. Pokud je plánováno využití biouhlu v zemědělství, je třeba využít materiál, který neobsahuje nepřijatelné hodnoty škodlivých látek např. těžkých kovů, znečišťujících organických látek aj. Tyto škodlivé látky většinou obsahují biouhly vyrobeny z čistírenských kalů, průmyslových nebo skládkových odpadů [1].

Během procesu pyrolýzy lze určité škodliviny zvýšenou teplotou neutralizovat např. organické toxiny a patogeny. Těžké kovy jsou během procesu pyrolýzy imobilizovány, čímž významně klesá jejich toxicita (hlavně u mědi a zinku) a vyluhovatelná frakce [10, 11].

Pyrolýzou je získáván také bioolej, který je využíván jako palivo 2. generace. Kvalitu a výtěžek biooleje ovlivňuje např. obsah popílku a dalších anorganických látek v biomase (jejich přítomnost negativně ovlivňuje vlastnosti vzniklého biooleje) [12].

### 3.2.2 Technologie výroby

Biouhel vzniká během procesu zvaný pyrolýza. Pyrolýza je termochemický proces, kdy dochází k transformaci biomasy nebo dalších organických materiálů. Procesem pyrolýzy vzniká kapalná složka, která je zvaná bioolej, pevná složka zvaná biouhel a plynná složka, která se nazývá syngas [13, 14].

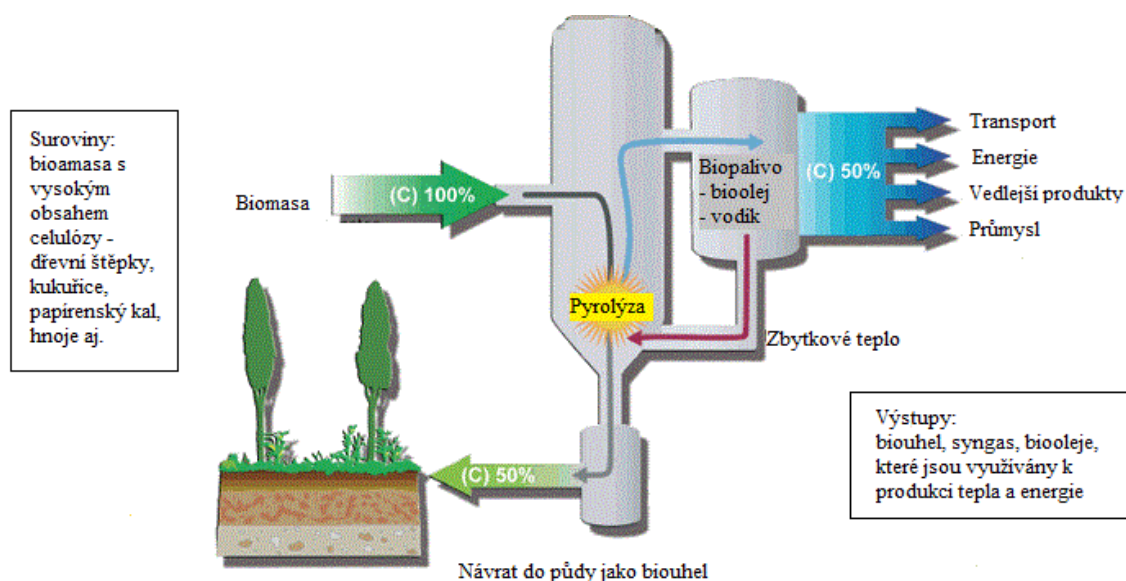
Během pyrolýzy je organický materiál zahříván na teplotu vyšší než 400 °C (při teplotách nižších než 360 °C docházelo u produktů ke snížení biologické odolnosti vůči degradaci) za nepřístupu kyslíku. Při zahřívání tohoto materiálu se uvolňuje plynná složka (pyrolýzní páry) a pevná složka (biouhel) zůstává. Při následném ochlazování pyrolýzních par, vysokomolekulární a polární plynné látky kondenzují a vzniká bioolej. Těkavé látky s nízkou molekulovou hmotností zůstanou v plynné fázi. Jednotlivé procesy, které probíhají během pyrolýzy, závisí na vstupní biomase a podmínkách reaktoru a jsou velmi složité [15, 16].

Proces pyrolýzy je energeticky soběstačný, vznikající plyn je spalován a vzniká teplo. U starších typů pyrolyzérů byly vznikající těkavé látky vypouštěny do životního prostředí a docházelo ke znečišťování vzduchu a odlesňování. Moderní pyrolyzéry už jsou schopny těkavé látky zachytávat. Těkavé látky jsou dále využívány pro výrobu biooleje a syngasu [1, 17, 18].

Jednotlivé technologie pyrolýzy lze rozdělit podle doby zdržení na pomalou, rychlou a bleskovou pyrolýzu a podle teploty během pyrolýzy na pyrolýzu nízkoteplotní (pod 500 °C), středněteplotní (500 – 800 °C) a vysokoteplotní (nad 800 °C). Mezi nízkoteplotní procesy bývá řazena např. torefakce, která probíhá při teplotách 200 – 300 °C, za atmosférického tlaku a bez přítomnosti kyslíku. Při pomalé pyrolýze je produkováno více syngasu a při rychlé více

olejů a kapalin. Dále se rozlišují technologie s různými typy zahřívání, např. pyrolýza elektrickým ohřevem, spálením paliv, mikrovlnami aj. [1, 6, 19].

Pyrolyzéry jsou dostupné jako mobilní nebo stacionární jednotky a jsou schopny zpracovat různé množství biomasy [1].



Obrázek 2: Schéma procesu pyrolýzy [20]

### 3.3 Certifikace biouhlu

Podle kvality jsou biouhly certifikovány do 2 skupin: základní a prémium. Pro udělení Evropského certifikátu pro biouhel je třeba splnit určitá kritéria, která zahrnují typ použité biomasy, způsob produkce, jeho vlastnosti a způsob aplikace [21].

#### 3.3.1 Vstupní materiál

Jako vstupní materiál může být použit pouze organický odpad, který byl zbaven všech neorganických složek (např. plast, guma, rozpouštědla aj.). Neměl by být také transportován z větší vzdálenosti než 80 km, výjimkou jsou pyrolýzní přísady nebo speciální typy biomasy, které mají být využity pro testování metody. Následně musí být uchována veškerá dokumentace týkající se použitého materiálu [21].

#### 3.3.2 Složení produktu

Co se týče složení produktu, pro to, aby mohl být certifikován jako biouhel, musí být obsah uhlíku alespoň 50 % sušiny biomasy, v opačném případě je materiál označen jako pyrolýzní popel s obsahem biouhlu. Dále musí tvořit 10-40 % celkového uhlíku tzv. černý uhlík (velmi stabilní aromatický uhlík, který určuje stabilitu biouhlu v půdě). Musí být splněny určité hodnoty molární poměrů, a to  $H/C_{org}$  (určuje stupeň karbonizace) má být menší než 0,7 (pokud je hodnota vyšší, pyrolýza pravděpodobně nebyla dostatečná) a  $O/C_{org}$  (charakterizuje vlastnosti biouhlu) menší než 0,4. Množství obsažených živin v biouhlu značně kolísá (1-45 %) a je potřeba, aby bylo uvedeno v dodacím listu [21].

### 3.3.3 Škodlivé látky v produktu

V certifikaci jsou uvedeny mezní hodnoty pro škodlivé látky, a to:

**Tabulka 1: Mezní hodnoty pro těžké kovy, vztaheny na 1 tunu sušiny biouhlu**

|                | <b>základní biouhel</b> | <b>prémiový biouhel</b> |
|----------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>olovo</b>   | < 150 g/t               | < 120 g/t               |
| <b>kadmium</b> | < 1,5 g/t               | < 1 g/t                 |
| <b>měď</b>     | < 100 g/t               | < 100 g/t               |
| <b>nikl</b>    | < 50 g/t                | < 30 g/t                |
| <b>rtuť</b>    | < 1 g/t                 | < 1 g/t                 |
| <b>zinek</b>   | < 400 g/t               | < 400 g/t               |
| <b>chrom</b>   | < 90 g/t                | < 80 g/t                |

Téměř veškeré množství těžkých kovů obsažených ve vstupním materiálu zůstane i v produktu [21].

**Tabulka 2: Mezní hodnoty pro organické kontaminanty, vztaheny na 1 kg sušiny biouhlu**

|  | <b>základní biouhel</b> | <b>prémiový biouhel</b> |
|--|-------------------------|-------------------------|
| <b>polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)<sup>1)</sup></b> | < 12 mg/kg              | < 4 mg/kg               |
| <b>polychlorované bifenyly (PCB)<sup>2)</sup></b>            | < 0,2 mg/kg             | < 0,2 mg/kg             |
| <b>dioxiny a furany (PCDD/PCDF)<sup>2)</sup></b>             | < 20 ng/kg I-TEQ        | < 20 ng/kg I-TEQ        |

<sup>1)</sup> Součet 16 prioritních znečišťujících látek podle EPA (seznam je uveden dále)

<sup>2)</sup> Celkový součet kongenerů

Analýza obsažených látek je prováděna jednou za půl roku pro polycyklické aromatické uhlovodíky a jednou za rok pro polychlorované bifenyly, dioxiny a furany. Obsah těchto látek v produktu je více závislý na průběhu pyrolýzy než na vstupním materiálu. Při využití moderních zařízení, bývají množství těchto látek velmi nízká [21].

### 3.3.4 Proces pyrolýzy

I během pyrolýzy, musí proces splňovat určitá kritéria. Co se týče energie potřebné pro provoz reaktoru, nesmí překročit 8 % (u základní kvality) a 4 % (u prémiové kvality) celkové energetické hodnoty biomasy. Dále musí být vznikající pyrolýzní plyny zachyceny, aby neunikly do atmosféry (musí splňovat lokální emisní prahové hodnoty pro tento typ zařízení). Výrobce musí být schopný prokázat, že zařízení splňuje dané limity emisí [21].

### 3.3.5 Šarže

Vyrobené biouhly lze rozdělit do jednotlivých šarží, které musejí být řádně označeny identifikačním číslem. Aby mohla být šarže považována za jednotnou, musí splňovat určitá kritéria: složení vstupní biomasy nekolísá o více než 15 %, teplota během pyrolýzy nesmí kolísat o více než 20 % a perioda výroby šarže nepřekročí 120 dní. Opět musí být uchovány kompletní záznamy o procesu. Pokud některé z uvedených kritérií není splněno, je vyrobený produkt zařazen pod novou šarží [21].



### 3.4 Stanovení kritérií pro biouhel přidávaný do půdy

V roce 2014 The International Biochar Initiative (IBI) vydala příručku s názvem Definice a pokyny ke zkouškám biouhlu pro použití v půdě. Uvedené testy jsou rozděleny do 3 kategorií: A, B a C. Testy z kategorií A a B jsou povinné pro všechny typy produktů, testy z kategorie C provádí špičkoví výrobci [22].

**Tabulka 3: Kategorie A: Sledované parametry a metody jejich stanovení**

| parametr                    | testovací metoda   |
|-----------------------------|--|
| vlhkost                     | ASTM D1762-84  |
| organický uhlík             | ASTM D4373   |
| poměr H:C <sub>org</sub>    | ASTM D4373   |
| celkový obsah popela        | ASTM D1762-84  |
| celkový obsah dusíku        | ASTM D4373   |
| pH                          | 04.11. TMECC (2001)  |
| elektrická vodivost         | 04.10. TMECC (2001)  |
| distribuce velikosti částic | rozdělení na sítích (velikosti 50 mm, 25 mm, 16 mm, 8 mm, 4 mm, 2 mm, 1 mm a 0,5 mm) |

**Tabulka 4: Kategorie B: Sledované parametry a metody jejich stanovení**

| parametr   | testovací metoda   |
|--|--|
| test inhibice klíčivosti   | OECD metodologie (1984) – 3 různé testy                                  |
| PAU (suma 16 PAU podle US EPA)   | US EPA 8270 (2007) se Soxhletovou extrakcí, US EPA 3540 se 100% toluenem |
| PCDD/PCDF  | US EPA 8290 (2007)   |
| PCB  | US EPA 8082 (2007) nebo US EPA 8275 (1996)                               |
| rtuť   | US EPA 7471 (2007)   |
| arsen, kadmium, chrom, kobalt, měď, olovo, molybden, nikl, selen, zinek, bor, chlor, sodík | TMECC (2001)   |

**Tabulka 5: Kategorie C: Sledované parametry a metody jejich stanovení**

| parametr                                      | testovací metoda                         |
|---|--|
| minerální dusík (ammoniové ionty a dusičnany) | extrakce 2M KCl a spektrofotometrie      |
| celkový fosfor a draslík                      | sušení popela a ICP                      |
| dostupný fosfor                               | 2% kyselina mravenčí a spektrofotometrie |
| těkavé látky                                  | ASTM D1762-84                            |
| plocha povrchu                                | ASTM D6556                               |

### 3.5 Využití biouhlu v půdě

#### 3.5.1 Vliv biouhlu na půdu

Přidáváním biouhlu do půdy lze vylepšovat její vlastnosti. Biouhel např. může zvyšovat hodnotu pH (úpravy kyselých půd), zlepšuje schopnost zadržovat živiny a vodu. Dochází k redukci uvolňování dusíku a zvyšuje se dostupnost fosforu. Přidáváním do půdy lze také značně snížit používání chemických hnojiv [23, 24].

Po přidání biouhlu do půdy byl prokázán nárůst škodlivých i užitečných mykorhizních hub a půdních bakterií a podpora jejich symbiózy s rostlinami. Tento nárůst může být způsoben jak přidáním biouhlu do půdy, tak i následnou změnou fyzikálně-chemických vlastností půdy. Mikroorganismy také často žijí na nasorbovaném organickém materiálu uvnitř pórů biouhlu, kde jsou chráněni před vnějšími činiteli, např. pasoucí se zvěří [16, 25].

Následkem změn půdních vlastností po přidání biouhlu může být snížena biologická dostupnost některých látek, tím dochází ke snížení toxicity nebezpečných látek. V souvislosti se sníženou biodostupností se snižuje i rychlost degradace organických sloučenin v prostředí. Biouhel může také zpomalit degradaci organických pesticidů a jiných organických kontaminantů. Množství přidávaného biouhlu, je třeba hlídat, aby naopak nedocházelo k výraznému snížení účinnosti pesticidů v důsledku malé biodostupnosti a tím k velkému zvyšování potřebných dávek pesticidů [26, 27, 28, 29].

#### 3.5.2 Vliv biouhlu na rostliny

Přidáním do půdy lze zvýšit také výnosy plodin, a to i na půdách se špatnou úrodností. Biouhel má také schopnost podpořit přijímání živin plodinami. Rostliny jsou schopné rychleji zpracovávat bílkoviny a tím je podporován rychlejší růst biomasy [30, 31, 32].

Bylo také prokázáno, že biouhel má schopnost zvýšit odolnost rostlin vůči různým onemocněním, např. houbové onemocnění na listech, které vyvolává *Botrytis cinerea Pers. Fr.* [33].

### 3.6 Remediační vlastnosti biouhlu

Biouhel má schopnost sorbovat ze zemin organické i anorganické látky, které mohou působit toxicky, přenášet se do rostlin nebo kontaminovat podzemní vodu. Schopnost vysoké sorpce má biouhel díky své vysoké porozitě. Sorpci látek ovlivňuje např. pH prostředí, půdní vlhkost, specifický povrch, velikost částic a doba expozice kontaminantů. Díky sorpci jsou škodlivé látky imobilizovány a nehrozí jejich šíření do okolí ve vyšším množství. V současné době je biouhel využíván např. při ekologickém přístupu k sanaci půdy, při zneškodňování odpadů nebo při zachytávání polycyklických aromatických uhlovodíků obsažených ve výfukových plynech aj. [16, 34, 35, 36].

Na biouhel se mohou sorbovat např. těžké kovy, léčiva, polycyklické aromatické uhlovodíky, chlorované látky, pesticidy aj.. Bylo prokázáno, že biouhel, který byl produkován při vyšší teplotě má vyšší kapacitu sorbovat těžké kovy (uvádí se až 10x vyšší sorpce než u komerčního aktivního uhlí). Při zkoumání sorpce polychlorovaných bifenyly bylo zjištěno, že schopnost jejich sorpce závisí na obsahu půdního organického uhlíku. Čím menší bylo jeho množství, tím se látky absorbovaly lépe a docházelo také k rychlejší degradaci [16, 37, 38, 39, 40].

Možné využití biouhlu je také pro odstraňování CO<sub>2</sub> z atmosféry [41].

## 4 CHARAKTERISTIKA SKUPIN STANOVOVANÝCH ORGANICKÝCH LÁTEK

### 4.1 Zdroje organických polutantů v biouhlu

Organické polutanty se mohou dostávat do výsledného biouhlu ze vstupního materiálu nebo vznikat během procesu pyrolýzy. Těkavé organické polutanty jsou po procesu pyrolýzy přítomny spíše v biooleji a syngasu. Ovšem během procesu ochlazování se zachytávají v pórech vzniklého biouhlu [41, 42].

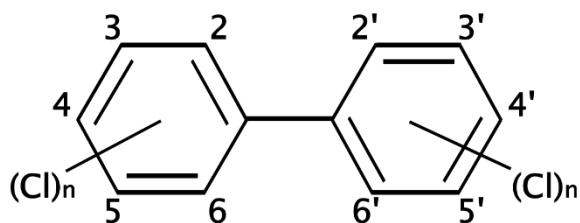
Organické polutanty je nutno v biouhlu sledovat kvůli jejich negativním účinkům na růst rostlin a mikroorganismy žijící v půdě. V současné době jsou testovány různé podmínky během pyrolýzy tak, aby byl obsah organických polutantů co nejnižší. Předmětem dalšího zkoumání zůstává chování organických polutantů obsažených v biouhlu po jeho aplikaci do půdy [41, 42].

V biouhlech jsou podle European Biochar Certificate (EBC) sledovány následující skupiny organických polutantů: polychlorované bifenyly (PCB), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) a polychlorované dibenzodioxiny (PCDD) a dibenzofurany (PCDF) [21].

### 4.2 Polychlorované bifenyly (PCB)

Polychlorované bifenyly byly poprvé objeveny na přelomu 19. a 20. století (poprvé syntetizovány v roce 1881, komerční výroba byla zahájena v roce 1929), nejvíce byly vyráběny a využívány v rozmezí 30. – 70. let minulého století. Následně bylo zjištěno, že se PCB v životním prostředí nerozkládají, kumulují se v potravních řetězcích a pravděpodobně mohou být nebezpečné pro lidské zdraví a životní prostředí. Proto byla jejich výroba a využívání postupně zastaveno [43, 44].

Patří mezi organické syntetické chemické látky, které se nevyskytují přirozeně v životním prostředí. Do životního prostředí se PCB převážně dostávaly během jejich výroby, která se provádí chlorací bifenyly a jejich následného využívání. Mohou vznikat také jako vedlejší produkty některých průmyslových výrob, při hoření olovnatého benzínu či při spalování odpadu. V životním prostředí se PCB běžně vyskytují jako směs kongenerů – teoreticky může existovat 209 různých kongenerů, jednotlivé kongenery se od sebe liší polohou a počtem navázaných atomů chloru (1-10) na aromatických jádrech. V komerčních produktech bylo nalezeno 130 různých kongenerů PCB. Jednotlivé kongenery se od sebe liší chemickými a fyzikálními vlastnostmi a také mají různou toxicitu. Podle WHO kat. B2 jsou řazeny mezi pravděpodobné karcinogeny pro člověka [43, 44, 45].



Obrázek 3: Obecná struktura molekuly PCB

#### 4.2.1 Vlastnosti polychlorovaných bifenyly

Jednotlivé kongenery PCB se většinou vyskytují v krystalické formě, ovšem většina komerčních směsí bývá ve formě viskózních kapalin, hustota závisí na počtu atomů chloru

v molekule (s vyšším počtem atomů chloru roste). V minulosti byly hojně vyráběny a využívány díky jejich výhodným technologickým vlastnostem. PCB jsou látky chemicky stabilní, které jsou teplotně odolné, dobře vedou teplo, mají nízkou elektrickou vodivost, lipofilní povahu (lze je snadno mísit s organickými rozpouštědly) a malou těkavost. Jsou odolné vůči kyselinám i zásadám a nepodléhají oxidaci a redukci. Rozpustnost PCB ve vodě je velmi nízká, závisí na počtu a poloze atomů chloru v molekule, s rostoucím počtem atomů chloru klesá [43, 44, 45, 46, 47].

#### **4.2.2 Využití polychlorovaných bifenyly**

V současné době se již PCB nevyužívají. Dříve byly využívány jako hydraulické kapaliny, teplotně odolná média, chladicí oleje v různých elektrických zařízeních, retardátory hoření, změkčovadla plastů, impregnační materiály aj. Také byly přidávány jako příměsy do tiskařských tuší, barev, pesticidů atd. Dále se vyskytovaly např. v lepidlech a tmelech. V některých státech se v omezené míře PCB stále využívají, jako např. plastifikátory, dielektrika aj. [44, 48, 49].

#### **4.2.3 Výroba polychlorovaných bifenyly**

Na území bývalého Československa PCB vyráběla společnost Chemko Strážské (oblast východního Slovenska). Výroba PCB v této společnosti byla zastavena v roce 1984, ovšem kvůli vysoké odolnosti PCB se kontaminace vyskytuje dodnes [50, 51].

Společnost vyráběla PCB pod názvy Delor, Hydeler a Delotherm [50, 51].

Směsi PCB byly také prodávány pod názvy: Asbestol, Askarel, Bakola, Sovol aj. [45].

Z důvodu, že dříve nebyly známy dopady PCB na životní prostředí a zdraví člověka, nebylo jejich šíření a využívání nijak kontrolováno [44].

#### **4.2.4 Polychlorované bifenyly v životním prostředí**

V legislativě bývá zahrnuto 5 – 7 kongenerů PCB. V České republice je v legislativě zahrnuto 7 tzv. indikátorových kongenerů, a to kongenery: 28, 52, 101, 118, 138, 153 a 180. Součet koncentrací těchto kongenerů se matematicky blíží celkovému obsahu všech PCB v analyzovaném vzorku [45].

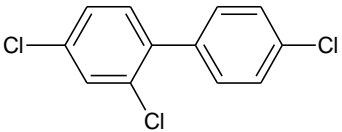
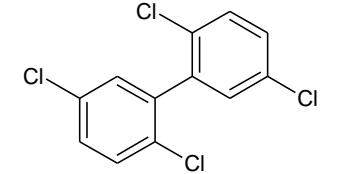
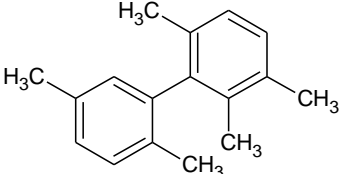
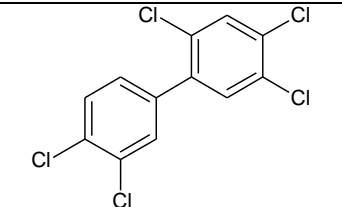
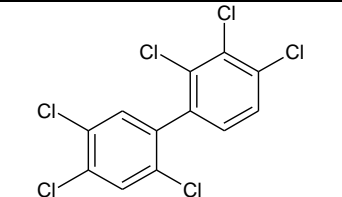
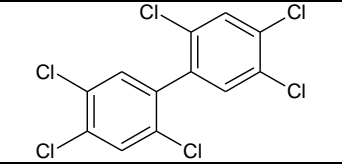
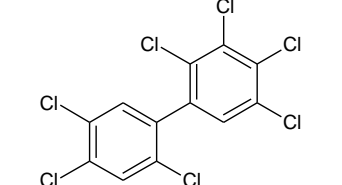
Do životního prostředí se PCB dostávaly především v důsledku havárií, úniků při výrobě, používání PCB a nakládáním s odpadem, který obsahuje PCB [52].

PCB jsou vzhledem ke své vysoké perzistenci přítomny téměř po celém světě, byly zjištěny i v odlehlých oblastech, kde nikdy nebyly používány. Tam se dostaly kvůli schopnosti přenosu na velké vzdálenosti. Podle fyzikálně-chemických vlastností jednotlivých kongenerů se liší jejich distribuce a transport. V průběhu času dochází ke zvyšování jejich koncentrací např. v mořských ekosystémech a následně dochází v důsledku různých chemických dějů (např. těkání a degradace) ke změnám ve složení směsí PCB. PCB jsou ve vodě sorbovány na sedimenty a organickou hmotu. PCB mohou být imobilizovány v sedimentech po dlouhou dobu, ovšem může docházet k jejich vymývání. Náchylnější k vymývání jsou nížechlorované kongenery PCB, které se také hůře sorbují na pevné částice [44, 53, 54, 55].

Z vody a půdy PCB těkají v malé míře do atmosféry, kde se většina PCB vyskytuje v plynné formě, zbytek je navázán na pevné částice. Z atmosféry mohou být odstraněny pomocí suché a mokré depozice. V plynné fázi PCB mohou reagovat s hydroxylovým radikálem. Doba, kterou PCB stráví v atmosféře, bývá v rozmezí 10 dní až 1,5 roku [44].

Degradace PCB v prostředí probíhá velmi pomalu a je závislá na stupni chlorace a poloze atomů chloru. PCB, které mají atomy chloru v para pozici, podléhají degradaci snadněji. Ve vodním prostředí dochází u nížechlorovaných kongenerů (mono-, di-, a tri-) k biodegradaci, výšechlorované kongenery biodegradaci nepodléhají. Mezi abiotické degradační procesy, které probíhají ve vodním prostředí, patří fotolýza. V roce 2001 byly PCB v rámci Stockholmské úmluvy o persistentních organických polutantech zařazeny na jejich seznam [43, 44, 56, 57].

**Tabulka 6: Přehled 7 indikátorových kongenerů PCB**

|                | celý název                            | molekulová hmotnost<br>[g/mol] | struktura   |
|----------------|---------------------------------------|--------------------------------|---|
| <b>PCB 28</b>  | 2,4,4'-Trichlorobifenylyl             | 257,54                         |    |
| <b>PCB 52</b>  | 2,2',5,5'-Tetrachlorobifenylyl        | 291,99                         |    |
| <b>PCB 101</b> | 2,2',4,5,5'-Pentachlorobifenylyl      | 326,43                         |   |
| <b>PCB 118</b> | 2,3',4,4',5-Pentachlorobifenylyl      | 326,43                         |  |
| <b>PCB 138</b> | 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobifenylyl    | 360,88                         |  |
| <b>PCB 153</b> | 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobifenylyl    | 360,88                         |  |
| <b>PCB 180</b> | 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobifenylyl | 395,32                         |  |

#### **4.2.5 Polychlorované bifenyly během pyrolýzy**

Polychlorované bifenyly jsou velmi těžko tepelně rozložitelné, způsobují to velmi silné vazby mezi uhlíkem a chlorem. Bylo prokázáno, že během pyrolýzy v redukčním prostředí (např. v prostředí methanu, vodíku...) může docházet k dehalogenaci PCB a výsledné produkty by mohly být komerčně využity. Při experimentech byl sledován vliv různých provozních podmínek (doba zdržení, teplota, koncentrace reaktantu) na průběh a účinek dehalogenace. Během pyrolýzy byly kontrolovány všechny podmínky. Jako reakční produkty byly pomocí GC/MS zjištěny dehalogenované uhlovodíky, chlorovodík a saze [58].

Dehalogenaci spalováním značně komplikuje fakt, že PCB patří mezi chemické látky, které mají schopnost zpomalovat hoření. Při spalování za oxidačních podmínek mohou vznikat nežádoucí produkty, jako např. polychlorované dibenzodioxiny a dibenzofurany a další typy chlorovaných uhlovodíků [59].

#### **4.2.6 Toxicita polychlorovaných bifenyly**

Akutní toxicita PCB je nízká. Větší problém představuje subchronická a chronická toxicita. Jednotlivé kongenery se od sebe liší svojí toxicitou. Ve směsích kongenerů dochází k vzájemnému ovlivnění jednotlivých toxicit, které se mohou zvyšovat i snižovat. Toxicita jednotlivých kongenerů se porovnává pomocí faktoru ekvivalentní toxicity (TEF). Mezi nejvíce toxické jsou řazeny kongenery, které mají dioxinovou aktivitu (především 12 minoritních kongenerů – non-ortho a mono-ortho substituované PCB) [43, 45, 60].

#### **4.2.7 Působení polychlorovaných bifenyly na živé organismy**

PCB mají lipofilní charakter, tudíž mají schopnost akumulovat se v tukových tkáních, játrech a mateřském mléce. Nejvyšší koncentrace PCB se vyskytují u vrcholových predátorů, přičemž nejvíce ohroženou skupinou jsou mořští savci, u nichž pak dochází k narušení reprodukční schopnosti. Nejvíce ohrožena toxicitou PCB jsou raná vývojová stádia. Kromě vodních organismů jsou další ohroženou skupinou i ptáci, kteří se živí především rybami [43, 44, 53].

#### **4.2.8 Působení polychlorovaných bifenyly na člověka**

PCB se mohou do těla dostávat buďto inhalačně nebo častěji orálně kontaminovanou potravou. Potrava může být kontaminována buďto příjmem PCB z vnějšího prostředí (např. ryby, ptáci, hospodářská zvířata aj.), přímou kontaminací nebo migrací kontaminantu z obalu [44].

PCB se rychle dostávají z trávicí soustavy a kvůli lipofilnímu charakteru se akumulují v játrech a tukových tkáních. PCB také mohou přecházet z matky na dítě již přes placentu a později mateřským mlékem. PCB působí škodlivě na imunitní, nervový, reprodukční a hormonální systém. Intoxikace lidí, kteří pracují s PCB, se projevují např. záněty spojivek, kožními onemocněními, zvracením, únavou aj. Mezi příznaky chronických otrav patří např. onemocnění jater, únava, poruchy krevního oběhu, reprodukční problémy, prodloužená doba těhotenství apod. [45, 61, 62].

V roce 2013 byly PCB mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny klasifikovány jako látky prokazatelně karcinogenní pro člověka [63].

#### **4.2.9 Zaznamenané otravy polychlorovanými bifenyly**

Největší hromadnou otravou, kdy bylo postiženo asi 15 000 lidí, byla intoxikace v Japonsku na ostrově Kjúšú v roce 1968. Intoxikace byla způsobena přítomností PCB v rýžovém oleji.

Postižení v lehčích případech pocítovali únavu, zvraceli, měli lehkou žloutenku či koliku. V těžších případech byla zaznamenána bronchitida, zápal plic, astma, vyrážky, ztráta vlasů a silné bolesti hlavy [45].

K dalšímu případu došlo na Taiwanu v roce 1979, kdy bylo postiženo 2000 lidí kontaminovaným rýžovým olejem [45].

#### 4.2.10 Limity pro polychlorované bifenylly v životním prostředí

##### Limity pro biouhel:

Viz. kapitola 3.3.3

##### Limity pro vodu:

**Tabulka 7: Limitní hodnoty součtu kongenerů ve vodě**

|                | číslo vyhlášky                      | limit   |
|----------------|-------------------------------------|---|
| pitná voda     | 2000/60 ES, 80/778 EHS              | 0,1 mg/l  |
| povrchová voda | 61/2003 Sb., příloha č. 3           | 0,012 µg/l*   |
| podzemní voda  | Věstník MŽP ročník XIV – leden 2014 | 0,017 µg/l – jednotlivé kongenery<br>0,17 µg/l – směs kongenerů |

\*suma 6 kongenerů: PCB 28, 52, 101, 138, 153 a 180

##### Limity pro půdu:

Ve vyhlášce 153/2016 Sb. je uveden preventivní limit pro 7 indikátorových kongenerů PCB v zemědělské půdě jako 0,02 mg/kg sušiny. Za hodnotu, v důsledku jejíhož překročení může být ohroženo zdraví lidí a zvířat je brána hodnota 1,5 mg/kg sušiny (suma 7 indikátorových kongenerů PCB). Na průmyslových plochách jsou limity pro jednotlivé kongenery 0,38 mg/kg sušiny a pro směs kongenerů 0,74 mg/kg sušiny. Pro ostatní plochy jsou limity 0,11 mg/kg sušiny pro jednotlivé kongenery a 0,22 mg/kg sušiny pro směs kongenerů [45].

##### Limity pro odpady:

Hodnoty jsou stanoveny pro sumu 6 indikátorových kongenerů PCB: PCB 28, 52, 101, 138, 153 a 180 a jsou uvedeny v Příloze č. 6 k vyhlášce č. 383/2001 Sb.

**Tabulka 8: Limitní hodnoty PCB v odpadech**

|   | limit [mg/kg sušiny] |
|---|----------------------|
| odpad, který je zakázáno ukládat na všechny typy skládek            | 50                   |
| odpad, který nelze využít v podzemních prostorách a na povrchu      | 0,2                  |
| odpad, který nesmí být ukládán na skládky skupiny S – inertní odpad | 10                   |

Na skládky skupiny S – ostatní odpad nesmí být ukládán odpad, ve kterém je koncentrace PCB vyšší než 20 mg/kg sušiny [45].

### 4.3 Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)

Do skupiny polycyklických aromatických látek můžeme zařadit velkou skupinu látek, které obsahují ve své molekule kondenzovaná aromatická jádra a neobsahují žádné heteroatomy ani substituenty. Jsou řazeny mezi perzistentní organické látky. Vlastnosti jednotlivých PAU se liší a jsou závislé na jejich struktuře. Do životního prostředí se dostávají důsledkem nedokonalého spalování látek, které obsahují uhlík, kdy se uvolňují do ovzduší. Jsou to látky velmi stabilní [64, 65, 66].

#### 4.3.1 Vlastnosti polycyklických aromatických uhlovodíků

Podle struktury lze látky rozdělit do 3 skupin. První skupinou jsou PAU lineárně anelované (anelace = komplementární připojení) mezi které je řazen např. antracen, další skupinou jsou PAU klastrově uspořádané, kdy je alespoň 1 jádro obklopené 3 jinými jádry (např. indeno[1,2,3-cd]pyren) a poslední skupinou jsou PAU angulárně uspořádané, kdy je alespoň 1 jádro obklopené 2 jinými jádry (např. chrysen). Nejstabilnější skupinou jsou PAU s angulárním uspořádáním, naopak nejméně stabilní jsou lineární PAU [64, 65].

PAU lze rozdělit také na základě jejich molekulární hmotnosti, a to na PAU s nízkou molekulární hmotností (méně než 4 aromatické kruhy) a na PAU s vysokou molekulární hmotností (více než 4 aromatické kruhy). Na molekulární hmotnosti jsou závislé fyzikálně-chemické vlastnosti konkrétních PAU. S rostoucí molekulární hmotností se snižuje těkavost a rozpustnost ve vodě, naopak roste bod varu a tání a lipofilita [64, 67, 68].

#### 4.3.2 Využití polycyklických aromatických uhlovodíků

PAU jako skupina nemají konkrétní samostatné využití, výjimkou jsou naftalen a anthracen. PAU jsou obsaženy např. v naftě, výrobcích z černouhelného dehtu, asfaltu a dalších materiálech, které jsou využívány při stavbě silnic a pokrývání střech [66].

Naftalen je používán jako surovina pro výrobu chemikálií využívaných při výrobě polyvinylchloridových plastů. Dále je naftalen využíván k výrobě barviv, léčiv, rozpouštědel, povrchově aktivních látek aj. [69].

Anthracen je využíván k výrobě červeného barviva, plastů, pesticidů, pyrotechniky atd. [70].

#### 4.3.3 Zdroje polycyklických aromatických uhlovodíků

PAU se do životního prostředí dostávají jak lidskou činností, tak i přírodními procesy. Mezi přírodní procesy jsou řazeny např. lesní požáry, sopečné erupce, v menší míře mohou také vznikat během biosyntézy probíhající v terestrických rostlinách, řasách a mikroorganismech [64, 66].

Antropogenní zdroje PAU převažují nad těmi přírodními. Hlavním zdrojem PAU jsou doprava, průmysl a lokální topeniště, kdy PAU vznikají během nedokonalého spalování látek obsahujících uhlík. PAU jsou také uvolňovány do životního prostředí během výroby hliníku, rafinerie ropy a také se uvolňují z materiálů, které obsahují PAU, např. silnice, asfaltové izolace střech aj. V důsledku dálkového transportu se PAU mohou vyskytovat i v místech, kde nejsou přítomny zdroje znečištění (např. Arktida a Antarktida) [66, 71].

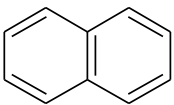
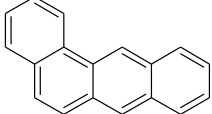
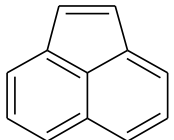
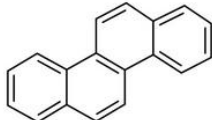
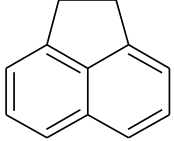
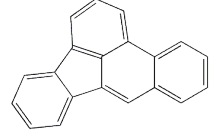
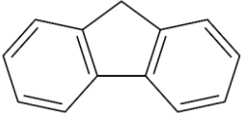
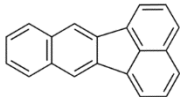

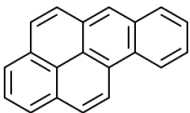
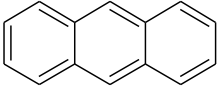
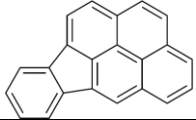
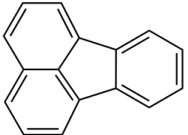
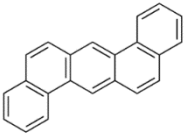
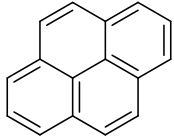
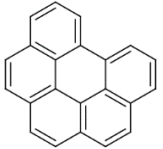
PAU lze syntetizovat z jednoduchých organických molekul (prekurzorů) během procesu pyrolýzy, kdy je teplota vyšší než 700 °C. Z prekurzorů vznikají velmi reaktivní molekuly, které jsou pomocí zacyklení stabilizovány [64, 72, 73].



#### 4.3.4 Polycyklické aromatické uhlovodíky v životním prostředí

Podle USEPA je běžně sledováno 16 PAU, a to: naphthalen, acenaftýlen, acenaften, fluoren, fenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren, benz(a)anthracen, chrysen, benzo(b)fluoranthen, benzo(k)fluoranthen, benzo(a)pyren, indeno(1,2,3-cd)pyren, dibenz(ah)anthracen a benzo(ghi)perylene [65].

**Tabulka 9: Přehled sledovaných PAU podle USEPA**

| název       | molekulová hmotnost [g/mol] | struktura   | název                 | molekulová hmotnost [g/mol] | struktura   |
|-------------|-----------------------------|---|-----------------------|-----------------------------|---|
| naphthalen  | 128,17                      |    | benz(a)anthracen      | 228,29                      |    |
| acenaftýlen | 152,20                      |    | chrysen               | 228,29                      |    |
| acenaften   | 154,21                      |   | benzo[b]fluoranthen   | 252,32                      |   |
| fluoren     | 166,22                      |  | benzo(k)fluoranthen   | 252,31                      |  |
| fenanthren  | 178,23                      |  | benzo[a]pyren         | 252,31                      |  |
| anthracen   | 178,23                      |  | indeno[1,2,3-cd]pyren | 276,33                      |  |
| fluoranthen | 202,08                      |  | dibenz(a,h)anthracen  | 278,35                      |  |
| pyren       | 202,25                      |  | benzo(ghi)perylene    | 276,33                      |  |

PAU se vyskytují téměř ve všech složkách životního prostředí, v průmyslových i venkovských oblastech. V zimním období je koncentrace PAU v ovzduší několikanásobně vyšší než v letním. Ve městech bývá často překročen limit pro benzo(a)pyren [65].

PAU se vyskytují v ovzduší buďto v plynné fázi, jako samostatné molekuly nebo v pevné fázi, kdy jsou PAU navázané na částicích aerosolu nebo na organické hmotě. U PAU navázaných na aerosolových částicích závisí reakce, transformace, degradace a doba, kterou stráví v atmosféře, na vlastnostech těchto částic. PAU, které jsou v plynném skupenství, mají stejné chování jako reálný plyn a dále se šíří pomocí difuze. PAU s nižší molekulární hmotností se častěji vyskytují v plynné fázi [64, 67, 68, 71].

#### **4.3.5 Polycyklické aromatické uhlovodíky během procesu pyrolýzy**

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) se uvolňují během pyrolýzy. Jejich výsledné množství v produktu nejvíce ovlivňují podmínky během výroby a pomocí moderních technik lze výrazně jejich množství snížit [21].

Byla provedena studie, kdy byl zkoumán vliv teploty pyrolýzy na množství obsažených PAU. Ve studii bylo sledováno 16 prioritních PAU podle US EPA. Jako vstupní materiál byly použity různé navážky suchého čistírenského kalu (0,1-4 g), které byly zpracovávány při různých teplotách (250-1250 °C), s různou dobou zdržení (2-16 s) a různým průtokem plynu (50-1000 ml/min). Bylo prokázáno, že výtěžek PAU se zvyšuje s rostoucí teplotou (nejvyšších výtěžků PAU bylo dosaženo při teplotě 950 °C, ekvivalent toxicity byl nejvyšší při teplotě 1150 °C). Koncentraci a ekvivalent toxicity vzniklých PAU ovlivnilo také množství vstupního vzorku a doba zdržení, nejnižších výtěžků i ekvivalentů toxicity bylo dosaženo při množství 1 g. Při zvyšování doby zdržení se množství a ekvivalent toxicity PAU zvyšovaly až do doby 10 s, poté obě hodnoty mírně klesly. To, že při rychlé pyrolýze vzniká více PAU, je pravděpodobně způsobeno tím, že PAU mají menší šanci ztráty v plynných formách do atmosféry než u pomalé pyrolýzy. Při rychlé pyrolýze mají PAU větší tendenci sorbovat se na povrchu biouhlu. Při zvyšování průtoku plynu byl sledován mírný pokles koncentrace PAU a výrazné snížení ekvivalentu toxicity. PAU byly analyzovány ve vzniklém plynu během pyrolýzy v trubkovém reaktoru [41, 74].

Významný vliv na koncentraci PAU v produktu má také chemické složení vstupního materiálu. Ve studii Quilliana a kolektivu z roku 2012, byla zjištěna nejvyšší suma koncentrací 16 prioritních PAU podle US EPA v biouhlu vyrobeného rýžových slupek. Větší množství bylo také zjištěno u biouhlu vyrobeného pyrolýzou ořechových skořápek. Nejnižších koncentrací bylo naopak dosaženo u biouhlu vyrobených ze dřevního odpadu [41].

#### **4.3.6 Polycyklické aromatické uhlovodíky v biouhlu**

PAU mají schopnost se efektivně vázat na biouhel, z tohoto důvodu může být aktivovaný biouhel použit jako filtr pro odstranění PAU např. z výfukových plynů nebo z kontaminovaných půd. Díky tomuto PAU představují pouze nízké riziko po aplikaci biouhlu do půdy. Pro rostliny je dostupné velmi malé množství, které je na nižší úrovni než v kompostu nebo kejdě [76].

V Evropské ochraně půdy pro pomocné látky a organická hnojiva nejsou pro PAU stanoveny prahové hodnoty. Prahová hodnota pro základní biouhel byla stanovena podle výzkumu a představuje nejmenší riziko pro půdu i obyvatelstvo [21].

#### 4.3.7 Toxicita polycyklických aromatických uhlovodíků

Největším rizikem PAU je jejich karcinogenita, která se zvyšuje s rostoucím počtem aromatických jader (do 5 jader a poté karcinogenita opět klesá). Podle karcinogenity jsou PAU řazeny do 3 skupin: skupina 2A – pravděpodobně karcinogenní pro lidi (např. benzo(a)pyren, benz(a)antracen), 2B – možná karcinogenní pro lidi (např. benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten) a 3 – neklasifikovatelné jako lidský karcinogen. Karcinogenita jednotlivých PAU se vyjadřuje pomocí toxického ekvivalentního faktoru (TEF), který vztahuje potenciál karcinogenity vzhledem ke karcinogenitě benzo(a)pyrenu [65].

PAU také negativně ovlivňují kvalitu půdy, působí inhibičně na produktivitu rostlin a mikrobiální procesy [41].

#### 4.3.8 Působení polycyklických aromatických uhlovodíků na živé organismy

PAU se díky vysoké lipofilitě kumulují v tukových tkáních. Největší množství bývá zjištěno ve vnitřních orgánech, které jsou bohaté na tukovou tkáň. Z těchto orgánů se následně PAU postupně uvolňují a mohou se přeměnit např. na epoxidy [75].

PAU mohou vyvolat u zvířat snížení plodnosti a problémy při vývoji plodu [65].

#### 4.3.9 Působení polycyklických aromatických uhlovodíků na člověka

PAU mají karcinogenní účinky a také mohou poškozovat zdravý vývoj plodu. Páry PAU mohou dráždit oči a kůži a také mohou způsobovat fotosenzibilitu. Je dokázáno, že také mohou negativně působit na játra a ledviny. PAU se sorbují na velmi jemné částice, které pronikají např. do plicních sklípků, kde se mohou zachytit. Podle způsobu vstupu do lidského těla mohou způsobit např. rakovinu plic, zažívacího traktu, kůže atd. [65, 66].

Jedním z nejznámějších kancerogenů ze skupiny PAU je benzo(a)pyren, který je přítomný např. v cigaretách a v ovzduší (hlavně během topné sezóny). Do lidského těla se benzo(a)pyren může dostávat vdechováním a také přes kůži. [65, 66].

#### 4.3.10 Limity pro polycyklické aromatické uhlovodíky v životním prostředí

##### Limity pro biouhel:

Viz. kapitola 3.3.3

##### Limity pro ovzduší:

**Tabulka 10: Limitní hodnoty PAU v ovzduší**

|                                    | číslo vyhlášky                     | limit                 |
|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| celková hmotnostní koncentrace PAU | Příloha č. 1 vyhl. č. 356/2002 Sb. | 0,2 mg/m <sup>3</sup> |
| PAU vyjádřené jako benzo(a)pyren   | Příloha č. 1 vyhl. č. 350/2002 Sb. | 1 ng/m <sup>3</sup>   |

### Limity pro vodu:

**Tabulka 11: Limitní hodnoty PAU ve vodě**

|                | číslo vyhlášky | limit                  |
|----------------|----------------|------------------------|
| pitná voda     | 252/2004 Sb.   | 0,1 µg/l <sup>1)</sup> |
| povrchová voda | 401/2015 Sb.   | 0,1 µg/l <sup>2)</sup> |

<sup>1)</sup> Suma kvantitativně (pokud nejsou stanoveny kvantitativně, k jejich součtu se přidá 0) stanovených PAU: benzo[b]fluorantenu, benzo[k]fluorantenu, benzo[ghi]perylenu, indeno[1,2,3-cd]pyrenu, pokud jsou zjištěny další PAU, nelze je zahrnout do ukazatele PAU

<sup>2)</sup> roční průměr

**Tabulka 12: Limitní hodnoty jednotlivých PAU pro podzemní vodu podle Metodického pokynu MŽP**

|                       | limit [µg/l] |
|-----------------------|--------------|
| acenaften             | 400          |
| anthracen             | 1300         |
| benz[a]anthracen      | 0,029        |
| benzo[a]pyren         | 0,0029       |
| benzo[b]fluoranthen   | 0,029        |
| benzo(k)fluoranthen   | 0,29         |
| dibenz[a,h]anthracen  | 0,0029       |
| fluoren               | 220          |
| fluoranthen           | 630          |
| chrysen               | 2,9          |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 0,029        |
| naftalen              | 0,14         |
| pyren                 | 87           |

### Limity pro půdu:

Podle vyhlášky 153/2016 Sb. jsou stanoveny preventivní limity rizikových látek v zemědělské půdě, po jejichž překročení by mělo být provedeno preventivní opatření. Preventivní hodnota pro sumu PAU je 1 mg/kg sušiny, indikační hodnota, při které může dojít k ohrožení zdraví lidí a zvířat je 30 mg/kg sušiny. Hodnoty jsou sumy následujících PAU: antracenu, benzo(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, benzo(a)pyrenu, benzo(ghi)perylenu, fenantrenu, fluorantenu, chrysenu, naftalenu, indeno(1,2,3-cd)pyrenu a pyrenu [65].

Limity pro zeminu se pro jednotlivé PAU liší, např. pro naftalen je limit pro průmyslová území 0,63 mg/m<sup>3</sup> a pro ostatní území 0,072 mg/m<sup>3</sup> [65].

Limity pro odpady:

Limitní hodnoty PAU jsou součtem koncentrací následujících PAU: antacenu, benzo(a)antracenu, benzo(a)pyrenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(ghi)perylenu, benzo(k)fluorantenu, fluorantenu, fenantrenu, chrysenu, indeno(1,2,3-cd)pyrenu, naftalenu a pyrenu [65].

**Tabulka 13: Limitní hodnoty PAU v odpadech**

|  | číslo vyhlášky                                | limit              |
|--|---|--------------------|
| odpady, ukládané na skládky inertního odpadu | Vyhláška MŽP č. 294/2005<br>Sb. příloha č. 4  | do 80 mg/kg sušiny |
| odpady využívané na povrchu terénu           | Vyhláška MŽP č. 294/2005<br>Sb. příloha č. 10 | do 6 mg/kg sušiny  |



V porovnání s čistírenským kalem byl zaznamenán pokles koncentrací dioxinů v biouhlu při nižších teplotách pyrolýzy. Snížil se i jejich ekvivalent toxicity. Při pyrolyzním zpracování domácího odpadu bylo zjištěno snížení množství obsažených PCDD, naopak množství PCDF vzrostlo 3-4krát, tím se zvýšil i ekvivalent toxicity. Množství dioxinů se prudce zvyšuje během pyrolýzy plastů a různých kapalných odpadů [79].

#### 4.4.5 Toxicita dioxinů

Nejvyšší toxicitu mají dioxiny, které mají atomy chloru v polohách 2, 3, 7 a 8 (celkem 17 kongenerů). Společně s koplanárními PCB (PCB, u kterých není žádný chlor v para poloze) jsou zahrnuty do celkového toxického ekvivalentu (TEQ). Naopak nejméně toxické jsou dioxiny, které obsahují 1-3 atomy chloru [78].

#### 4.4.6 Působení dioxinů na člověka

Dioxiny mají schopnost se kumulovat v těle, v tukových tkáních. Jejich dlouhodobé působení způsobuje poškození imunitního systému, nervového systému a změny ve funkci endokrinního systému. Jsou také prokázány negativní účinky na inteligenci, schopnost soustředění a na chování (např. hyperaktivita u dětí) [78].

Kongenery 2,3,7,8 tetrachlordibenzo-p-dioxin a 2,3,4,7,8 pentachlordibenzofuran jsou řazeny do skupiny prokázaných karcinogenů pro lidi (kategorie 1) [78].

Akutní otravy vysokými dávkami dioxinů se projevují tzv. chlorakné (onemocnění kůže, při kterém se na kůži tvoří otevřené kordony s tmavě pigmentovanými čepy) [78, 80].

Do lidského těla se dioxiny dostávají nejčastěji potravou, nejčastěji z rybiho masa a tuku a také z masa a mléka hospodářských zvířat. Nižší hodnoty koncentrací dioxinů jsou zaznamenávány u vegetariánů [77, 78].

#### 4.4.7 Zaznamenané otravy dioxiny

Nejnámějším případem otravy dioxiny je neúspěšná otrava bývalého ukrajinského prezidenta Viktora Juščenka. Dále byly zaznamenány případy otrav u dětí ze Sevesa (severní Itálie) a Vietnamu [76, 78].

#### 4.4.8 Limity pro dioxiny v životním prostředí

Limity pro biouhel:

Viz. kapitola 3.3.3

Limity pro ovzduší:

**Tabulka 14: Limitní hodnoty dioxinů pro ovzduší**

|   | číslo vyhlášky          | limit                       |
|---|-------------------------|-----------------------------|
| obecný emisní limit                             | 356/2002 Sb., příloha 1 | 0,1 ng I-TEQ/m <sup>3</sup> |
| emise ze spaloven odpadu a spolužalování odpadu | 354/2002 Sb.            | 0,1 ng I-TEQ/m <sup>3</sup> |

Limity pro vodu:

**Tabulka 15: Limitní hodnoty dioxinů pro vodu**

|               | číslo vyhlášky          | limit   |
|---------------|-------------------------|---|
| odpadní voda  | 354/2002 Sb., příloha 4 | 0,3 ng TEQ/l  |
| podzemní voda | Věstník MŽP 3/1996      | A 10 pg I-TEQ/l<br>B 25 pg I-TEQ/l<br>C 50 pg I-TEQ/l |

Limity pro půdu:

Podle vyhlášky 153/2016 Sb. je preventivní limit dioxinů v zemědělské půdě 5 ng I-TEQ/kg sušiny. Hodnota, při které může docházet k poškození zdraví lidí a zvířat je 100 ng I-TEQ/kg [78].

Limity pro odpady:

**Tabulka 16: Limitní hodnoty dioxinů pro odpady**

|                   | číslo vyhlášky | limit          |
|-------------------|----------------|----------------|
| běžné odpady      | 1195/2006      | 15 µg I-TEQ/kg |
| nebezpečný odpad* | 172/2007       | 5 mg I-TEQ/kg  |

\* např. odpady z tepelných procesů, stavební a demoliční odpady, odpady z čistíren odpadních vod aj.



## 5 ANALYTICKÉ METODY

### 5.1 Extrakce

Extrakcí jsou nazývány děje, kdy dochází k převodu látky mezi fázovým rozhraním. Při tomto ději se dostává látka z jedné fáze do fáze druhé. Fáze, ze které látka přechází, může být plynná, kapalná i pevná [81].

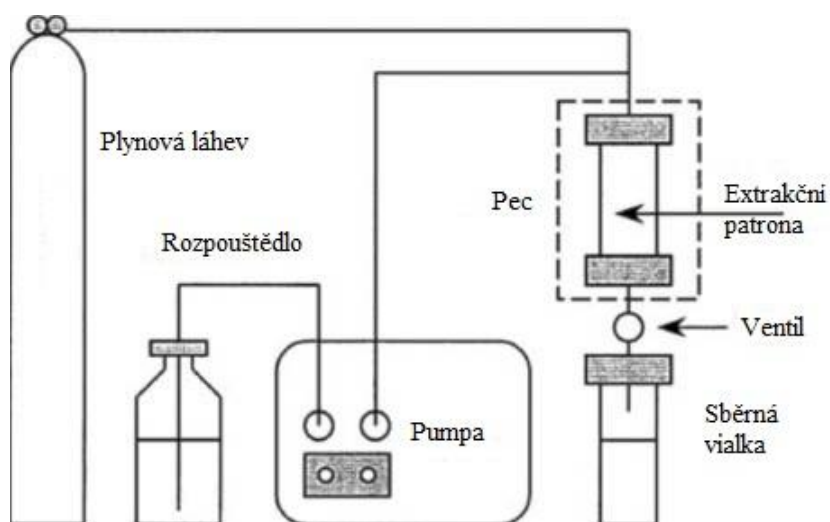
Extrakce můžeme rozdělit podle skupenství fází do několika skupin [81].

První skupinou je extrakce z pevné fáze do fáze kapalně. Při tomto typu extrakce je používáno vhodné rozpouštědlo, ve kterém se rozpouští pouze požadované látky. Při extrakci z kapaliny do kapaliny se látka dělí mezi 2 vzájemně nemísitelné kapaliny. Princip je založen na rozdělovací rovnováze. Při extrakci z kapaliny nebo plynu na pevnou fázi je požadovaná látka selektivně zachycována na pevnou fázi [81].

#### 5.1.1 Extrakce podporovaná tlakem (PSE)

Extrakce podporovaná tlakem je metoda, při které dochází k extrakci analytů z pevných vzorků pomocí organických rozpouštědel. Během extrakce je využíván zvýšený tlak a teplota, díky vyššímu tlaku lze využívat teplotu, která je vyšší než teplota varu použitého rozpouštědla. V důsledku vyšší teploty dochází k lepší rozpustnosti analytu, vyšší difúzní rychlosti a lepší prostupnosti rozpouštědla vzorkem. Naopak viskozita a povrchové napětí rozpouštědla klesá. Při využití této metody extrakci dochází ke zkrácení potřebné doby a také je využito menší množství rozpouštědla [82].

Extrahovaný vzorek je vložen do nerezové patrony, která je následně umístěna do termostatu a neprodyšně uzavřena pomocí těsnění. Během extrakce je patrona se vzorkem naplněna rozpouštědlem, které je následně ohřáto na požadovanou teplotu a pomocí inertního plynu (většinou dusíku) je natlakováno na požadovanou hodnotu. Doba extrakce lze zvolit dle potřeby. Po uplynutí této doby je rozpouštědlo pomocí inertního plynu vytlačeno do sběrné vialky. Celý proces lze několikrát zopakovat [82, 83].



### 5.2 Extrakce biouhlu využívané v praxi

V důsledku vysoké sorpční kapacity biouhlu je velmi obtížné najít vhodnou metodu extrakce. Úspěšnost extrakce je závislá jak na vlastnostech biouhlu, tak i na stanovované látce [41].

Před samotnou extrakcí je potřeba vysušený vzorek dobře promíchat. Nejčastější metody extrakce rozpouštědlem využívané v praxi jsou Soxhletova extrakce nebo extrakce podporovaná tlakem. Velmi důležitým faktorem, který ovlivní úspěšnost extrakce je volba vhodného rozpouštědla [41].

Pro extrakci organických látek s vysokou až střední těkavostí lze využít jako rozpouštědlo např. dichlormethan. Pro extrakci těkavých látek lze využít také extrakční metody bez využití rozpouštědla. Často bývá využívána tepelná desorpce látek z biouhlu, nebo různé metody mikroextrakce. Metody mikroextrakce na pevnou fázi (SPME) jsou vhodnější spíše pro půdu. U biouhlu snižuje účinnost mikroextrakce silná sorpce látek na jeho povrchu [41].

Pro ověření úspěšnosti extrakční metody jsou v praxi využívány certifikované materiály, které obsahují známé koncentrace stanovovaných látek [41].

### **5.2.1 Extrakce PCB**

Extrakce PCB se běžně provádí pomocí Soxhletovy extrakce nebo sonifikačních technik. Tyto metody jsou ovšem časově náročné a je při nich vysoká spotřeba rozpouštědla, a proto je v současnosti snaha z ekonomických a ekologických důvodů o jejich náhradu úspornějšími metodami. Jako vhodné metody lze např. využít mikrovlnnou extrakci, extrakci superkritickou tekutinou nebo extrakci podporovanou tlakem [85].

Pro porovnání účinností PSE a Soxhletovy extrakce byla provedena extrakce matric obohacených o PCB, kdy byly sledovány výtěžky 5 kongenerů (PCB 5, PCB 31, PCB 52, PCB 101 a PCB 153). Pro oba typy extrakce byla navážka vzorku 0,5 g. Jako rozpouštědlo byla využita směs hexanu a acetonu smíchaných v poměru 1:1. Při PSE byla spotřeba rozpouštědla 15-30 ml, u Soxhletovy extrakce to bylo 300 ml. Doba extrakce byla u PSE 15 minut, z toho statická extrakce trvala 5 minut, u Soxhleta byla doba extrakce 24 hodin. Po následné analýze pomocí GC-ECD, bylo zjištěno, že pomocí PSE je dosahováno mírně vyšší účinnosti extrakce než u Soxhleta. Výtěžky jednotlivých kongenerů byly ovlivněny jejich typem (výtěžnost např. ovlivňuje ortho-substituce), molekulovou hmotností a povahou matrice [85].

V další studii, kterou provedli Ritcher a Schantz byl zkoumán vliv teploty a objem rozpouštědla během PSE. Podmínky během extrakce byly následující: zahřívání po dobu 5 minut, 5 minut ekvibrace a 5 minut statická extrakce při tlaku 14 MPa. Postupně byla extrakce provedena při různých teplotách, a to při 50, 75 a 125 °C. Po následné analýze pomocí GC-ECD bylo zjištěno, že nejvyšších výtěžků bylo dosaženo při teplotě 75 °C, výtěžek kongeneru PCB 101 dosahoval 95 %, při teplotě 125 °C to bylo 90 %. Při teplotě 50 °C byl výtěžek extrakce nižší, a to 75 %. Podobné výsledky měření byly zaznamenány i u ostatních kongenerů. Při vyšších teplotě je totiž vyšší rozpustnost kontaminantů v rozpouštědle a tím je oslabena interakce mezi analytem a matricí [85].

### **5.2.2 Extrakce PAU**

V minulosti byly využity extrakce s různými rozpouštědly. Například Singh a kolektiv použili ve své metodě 12hodinovou Soxhletovu extrakci, kdy jako rozpouštědlo použili dichlormethan. Touto metodou stanovili koncentraci PAU menší než 0,5 mg/kg, což považovali za zanedbatelnou hodnotu, která nepředstavuje riziko. Tyto výsledky však nebyly zcela správné, Fernandes a Brooks zjistili, že při extrakcích dichlormethanem, jsou hodnoty výtěžků vnitřních standardů PAU nízké. Dále byly zkoušeny extrakce např. hexanem (obecná

metoda pro kvantifikaci PAU v různých biouhlech podle německého TÜV), směsí acetonu a hexanu, toluenu a methanolu aj. Například při využití 36hodinové Soxhletovy extrakce 100% toluenem pro různé biouhly bylo dosaženo výtěžnosti vnitřního standardu (deuterované PAU) 42-72 % [86].

V další studii byla provedena extrakce 1 g biouhlu pomocí Soxhletovy extrakce po dobu 36 nebo 18 hodin s využitím 160 ml rozpouštědla (aceton, směs acetonu a cyklohexanu v poměru 1:1 a 5:1). Získaný extrakt byl následně odpařen na rotační vakuové odparce při teplotě 40 °C. Koncentrovaný extrakt byl nanesen na silikagel (6 ml, 1 g DSC-Si Supelco – promytí ethylacetátem, sušení a kondicionování 4 ml cyklohexanu). Čištění bylo provedeno 1 ml cyklohexanu, následně byly PAU eluovány 4 ml směsí acetonu a cyklohexanu (v poměru 1:1). Získaný roztok byl před analýzou pomocí GC/MS zahuštěn na objem 10-50 µl pod dusíkem a bylo přidáno 10 µl vnitřního standardu (TTB). Bylo zjištěno, že vyšších výtěžků vnitřních standardů bylo dosaženo při delší extrakci, a to 67-88 %. Ze zkoumaných rozpouštědel bylo dosaženo nejvyšších výtěžků pro acenaften-d10 (84 %) a chrysen-d12 (29 %) při použití acetonu, pro fenanthren-d10 jako nejvhodnější rozpouštědlo vyšla směs acetonu a cyklohexanu v poměru 1:1, kdy byl výtěžek 66 % [87].

Další možností extrakce je extrakce zpětným tokem (refluxem). Byly extrahovány 2 g referenčního biouhlu pomocí 4 různých rozpouštědel: toluenu, dichlormethanu, směsí acetonu a cyklohexanu (v poměru 1:1 a 1:5). Vzorčky byly extrahovány po dobu 4 hodin s 80 ml rozpouštědla. Získané extrakty byly zfiltrány a následně pomocí rotační vakuové odparky a následně dusíku zahuštěny na objem cca 100 µl, po zahuštění bylo přidáno 10 µl vnitřního standardu (TTB). Následně byla provedena analýza pomocí GC/MS. Ze zjištěných hodnot plyne, že nejvhodnější ze zkoumaných rozpouštědel pro fenanthren-d10 (výtěžek 68 %) a chrysen-d12 (výtěžek 58 %) je toluen. Nejvyššího výtěžku acenaftenu-d10 bylo dosaženo při využití dichlormethanu, a to 83 % [87].

Další možností extrakce je extrakce ultrazvukem. 1 g vzorku byl extrahován po dobu 30 minut s 20 ml směsí acetonu a cyklohexanu (v poměru 1:1). Extrakt byl následně odstředěn a supernatant zahuštěn na 2 ml pomocí rotační vakuové odparky a následně dále odpařován pod dusíkem. Po přidavku 10 µl vnitřního standardu (TTB) byla provedena analýza GC/MS. Při extrakci ultrazvukem byly ve srovnání s ostatními metodami výtěžky vnitřních standardů výrazně nižší – 0,4-9 % [87].

Pro extrakci PAU se v praxi běžně využívá toluen nebo dichlormethan. Podle Hilbera je nejlepšími výsledky dosahováno při Soxhletově extrakci 100% toluenem po dobu 36 hodin. Později pak uvedli Cole a Fabbri ve svých studiích, že vhodnějším rozpouštědlem pro extrakci je směs acetonu a cyklohexanu, zejména pro PAU s nižší molekulovou hmotností [41].

### 5.2.3 Extrakce dioxinů

Pro extrakci dioxinů byla taktéž provedena studie pro porovnání účinnosti Soxhleta a PSE. Při obou extrakcích byl využit jako rozpouštědlo toluen a stejné navážky vzorku. Extrakce Soxhletem trvala 18 hodin a bylo spotřebováno 250 ml rozpouštědla. U PSE bylo využito 15 ml rozpouštědla a extrakce probíhala následujícím způsobem: 9 minut zahřívání a následná statická extrakce při tlaku 14 MPa po 5 minutách ve 2 cyklech. Po následné analýze pomocí

GC/MS byly zjištěny velmi podobné výsledky, avšak při využití PSE byla doba extrakce o mnoho kratší a spotřeba rozpouštědla výrazně nižší [88].

### 5.3 Separační metody – chromatografie

Principem všech typů chromatografie je dělení složek mezi 2 fáze. Fáze, která se pohybuje, je označována jako fáze mobilní. Mobilní fáze může být ve skupenství kapalném nebo plynném. Podle skupenství mobilní fáze rozlišujeme různé druhy chromatografie – kapalinovou a plynovou. Druhá fáze, která se nepohybuje, je označována jako stacionární fáze neboli sorbent [89].

Analyzovaná směs je unášena v mobilní fázi. Během chromatografie dochází k opakovanému přesunu látek z mobilní do stacionární fáze a zase zpět [89].

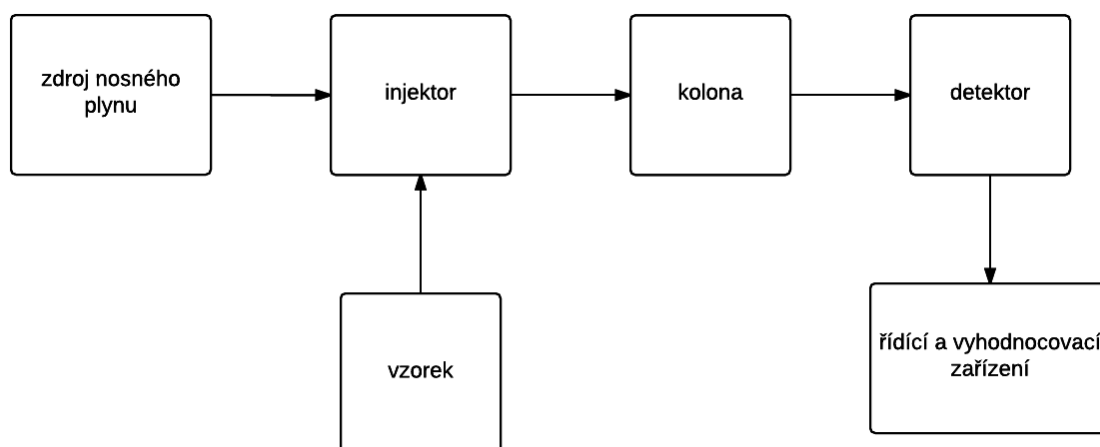
Látky jsou separovány na základě jejich retenčních časů, které závisí na tom, jak daná látka interaguje se stacionární fází. Čím více daná látka se stacionární fází interaguje, tím déle daná látka prochází kolonou – má vyšší retenční čas [89].

Podle uspořádání dělíme chromatografie na metody plošně uspořádané, sloupcové a kolonové. Mezi plošně uspořádané metody patří papírová a tenkovrstvá chromatografie. Do kolonové chromatografie patří plynová (mobilní fáze je plyn) a kapalinová (mobilní fáze je kapalná) chromatografie [90].

#### 5.3.1 Plynová chromatografie (GC)

Během plynové chromatografie je vzorek unášen kolonou pomocí nosného plynu. Jako nosný plyn bývá využíván inertní plyn (např. dusík, helium, vodík aj.). Nosný plyn je volen např. podle jeho čistoty a využitého detektoru. Nejprve je vzorek nastříknut do injektoru a v něm odpařen. Páry vzorku jsou pomocí nosného plynu unášeny na kolonu, z níž jsou následně jednotlivé složky postupně eluovány a postupují do detektoru [90, 91, 92].

Výsledky kvantitativní i kvalitativní analýzy ovlivňuje průtok nosného plynu. Konstantní průtok během analýzy zajišťuje regulátor průtoku, který je umístěn před injektorem [91, 92].



Obrázek 6: Schéma plynového chromatografu [93]

### 5.4 Metody využitě pro identifikaci látek

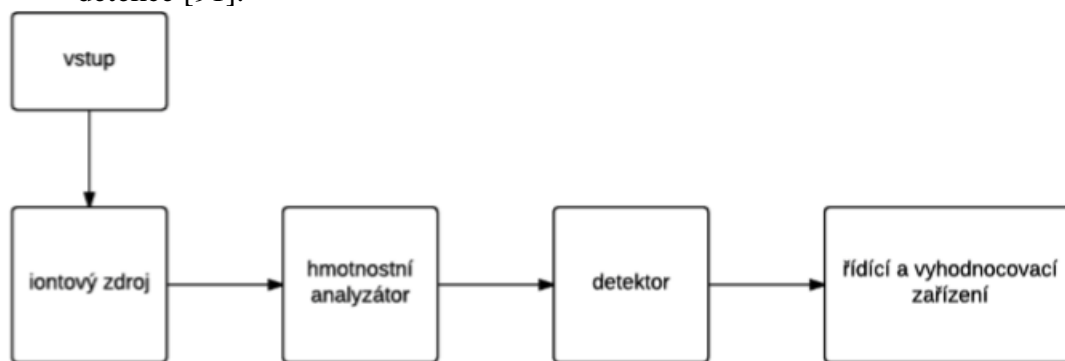
#### 5.4.1 Hmotnostní spektrometrie (MS)

MS je metoda, která separuje ionty podle poměru jejich hmotnosti a náboje. Pomocí MS lze také stanovit hmotnosti atomů, molekul nebo jejich částí. Analyzované částice je potřeba

před analýzou převést na ionty. Na rozdíl od jiných spektrometrických metod je MS metodou destruktivní [90, 91, 94].

MS je tvořena několika kroky:

- ionizace – při ionizaci dochází k převodu nenabitých částic na ionty (např. elektronová ionizace, chemická ionizace, elektrosprej aj.)
- separace – dochází k ní v analyzátoru (např. kvadrupol, měření doby letu, iontová past aj.), kde dochází k dělení iontů podle jejich  $m/z$
- detekce [91].



Obrázek 7: Schéma hmotnostního spektrometru [93]

### 5.4.2 Metody snímání

Podle cíle analýzy lze u některých hmotnostních spektrometrů zvolit více metod snímání. Lze využít metoda skenování, kdy jsou po celou dobu sledovány všechny hmoty ve zvoleném rozsahu, nebo metoda SIM (selected ion monitoring), kdy jsou snímány v určitém čase pouze zvolené hmoty. Metodu skenování je nutné použít v případě, kdy identifikujeme jednotlivé látky pomocí hmotnostního spektra [95].

#### 5.4.2.1 Metoda SIM

Metodu SIM poprvé představil v 60. letech Hammar s jeho kolegy pod názvem hromadná fragmentografie, v průběhu let se názvy této metody měnily [96].

Metoda je vhodná pro kvantifikaci látek, u kterých známe hmotnostní spektra. Při metodě s vybraným iontovým monitorováním (SIM) je přístroj nastaven tak, aby v určitý čas snímal pouze zvolené hmoty a dosahoval tak velmi vysoké citlivosti při detekci specifických sloučenin. Citlivost je zvýšena díky tomu, že hmotnostní spektrometr může delší čas snímat zvolenou hmotu, která odpovídá fragmentům vybraných sloučenin. Během SIM metody je tak zachycen celý proud zvoleného iontu, na rozdíl od skenovací metody, kdy je zachycena pouze jeho část [96, 97].

Pro správné fungování metody SIM je velmi důležité nastavení jednotlivých parametrů např.:

- volba sledovaných iontů – v praxi bývají sledovány 3 různé ionty pro 1 sloučeninu – 1 pro kvantifikaci a zbylé pro získání kvalitativní informace
- správné určení hmotnosti s přesností na 0,1 AMU (odchylka od celého čísla je nazývána hmotnostní defekt)
- správný čas a doba snímání [97].

Pro tuto metodu je nejvhodnějším analyzátozem kvadrupol, u kterého lze rychle měnit intenzita magnetického pole [95].

### 5.4.3 Tandemová technika GC/MS

Pro bezchybné fungování je potřeba zajistit, aby tlak na výstupu z kolony a tlak v iontovém zdroji byly přibližně stejné. Iontový zdroj pracuje ideálně za vysokého vakua. Dále je potřeba zajistit výkonný čerpací systém, který je schopen odčerpat nadbytek nosného plynu z iontového zdroje [89].

V současné době je nejčastějším typem kolony pro GC/MS kapilární separační kolona. Ústí kapilární kolony je možné bezproblémově propojit s iontovým zdrojem a při průtocích nosného plynu do  $3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  je možné využít i běžné čerpací systémy pro udržení nízkého tlaku v iontovém zdroji [89].

#### 5.4.3.1 Aplikace GC/MS

Spojení GC a MS se využívá v mnoha odvětvích chemické analýzy. Nejvíce se využívá pro analýzu komplikovaných směsí, kdy je identifikace látek podle retenčních časů nemožná. GC/MS se využívá například v potravinářském a kosmetickém průmyslu, farmaceutickém průmyslu a při toxikologických a ekologických analýzách [89].

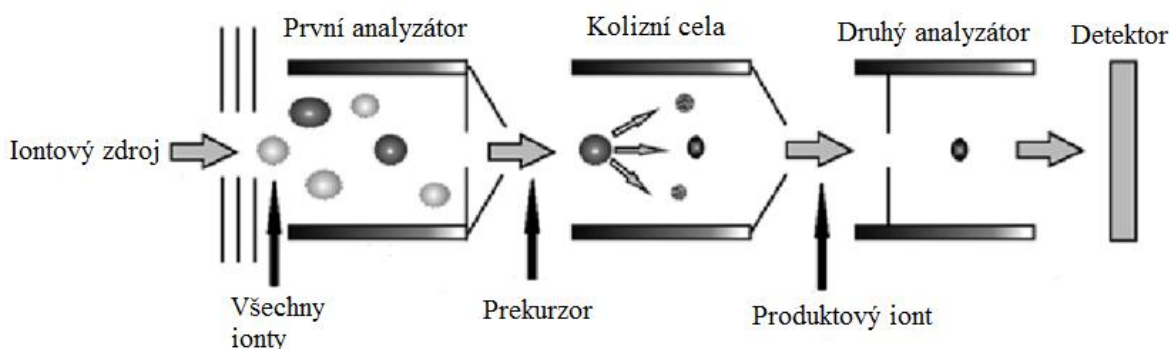
### 5.4.4 Tandemová hmotnostní spektrometrie (MSMS)

Citlivost v hmotnostní spektrometrii určuje poměr signálu a šumu. Šum je tvořen 2 složkami: instrumentálním a chemickým šumem. Chemický šum lze snížit např. pomocí vhodného čištění vzorku, instrumentální šum lze výrazně snížit např. tandemovou hmotnostní spektrometrií a tím dosáhnout vyšší citlivosti [95].

Při tandemové hmotnostní spektrometrii jsou využívány analyzátory tvořené 2 skenovacími analyzátory, které jsou odděleny kolizní celou. V prvním analyzátoru dochází k výběru fragmentů se zvoleným  $m/z$  (prekurzory), ty jsou následně v kolizní cele fragmentovány srážkami s kolizním plynem za vzniku produktových iontů, které jsou dále sledovány ve třetím kvadrupolu (metoda SRM, MRM) [97, 98].

Tandemová hmotnostní spektrometrie je vhodná pro kvantitativní i kvalitativní analýzu [98].

Pro analýzu cílových sloučenin lze využít metodu monitorování více reakcí (MRM), při které lze kvantifikovat jednotlivé sloučeniny ve směsi. Tato technika využívá jako analyzátor trojitý kvadrupol, kdy je nejprve vybrán prekurzor, který je fragmentován na produktové (dceřiné) ionty, z nichž jsou vybrány 1 nebo více pro účely kvantifikace. Tímto způsobem jsou detekovány pouze látky, které odpovídají oběma kritériím (prekurzor a produktový iont), zbylé ionty jsou ignorovány, čímž se zvýší citlivost. Metoda, kdy jsou skenovány všechny ionty lze využít pro analýzu necílových sloučenin a pro identifikaci neznámých sloučenin pomocí hmotnostního spektra [99, 100].



Obrázek 8: Schéma trojitého kvadrupolu [102]

## 5.5 Metody stanovení organických látek v biouhlu ve studiích

Nejčastěji bývá ve většině studií využívána metoda plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

Problémem při kvantitativní analýze bývá časté překrývání vrcholů píků jednotlivých analytů, čemuž lze částečně zabránit využitím metody SIM [41].

### 5.5.1 Stanovení PCB

Abrha a Raghavan pro analýzu PCB využili techniku GC-ECD. Analýza byla provedena s využitím kapilární kolony s kondenzovaným oxidem křemičitým. Na kolonu byl nastříknut 1  $\mu$ l extraktu. Teplotní systém byl nastaven tak, že počáteční teplota byla 180  $^{\circ}$ C a konečná 245  $^{\circ}$ C s rychlostí zahřívání 5  $^{\circ}$ C/minutu. Teplota injektoru a detektoru byla 320  $^{\circ}$ C. Pro kvantifikaci PCB byla využita kalibrační křivka s konstantním přídavkem vnitřního standardu [85].

### 5.5.2 Stanovení PAU

Spokas a kolektiv v roce 2011 detekovali v biouhlu pomocí GC/MS s desorpcí headspace (při 150  $^{\circ}$ C po dobu 10 minut) okolo 140 látek s molekulovou hmotností pod 100 Da. Metody tepelné desorpce jsou využívány pro těkavé látky [41].

Fabri a Rombola využili k analýzám extraktů taktéž GC/MS, kdy byl využit jako analyzátor v hmotnostním spektrometru kvadrupol. Na kolonu s kondenzovaným oxidem křemičitým byl nastříknut 1  $\mu$ l extraktu. Jako nosný plyn bylo využito helium, průtok byl konstantní (1 ml/min). Pro kvantifikaci analytů byla použita metoda kalibrační křivky s konstantní koncentrací vnitřních standardů [41].

### 5.5.3 Stanovení dioxinů

Richter ve své studii pro stanovení dioxinů využil více metod. První metodou GC/LRMS s využitím DB-dioxinové kolony. Další metodou je GC/MSMS s kapilární kolonou s kondenzovaným oxidem křemičitým a s využitím trojitého kvadrupolu jako analyzátoru [88].

## **6 METODY PRO STANOVENÍ ORGANICKÝCH LÁTEK V BIOUHLU VYUŽÍVANÉ V PRAXI**

### **6.1 Metody využívané pro stanovení PCB**

#### **6.1.1 Pracovní postupy metod**

US EPA 8082A (podle The International Biochar Initiative (IBI))

Pevný vzorek extrahovat buďto směsí hexanu a acetonu (v poměru 1:1) nebo směsí dichlormethanu a acetonu (v poměru 1:1) a lze provést buďto Soxhletova extrakce (metoda 3540), automatizovaná Soxhletova extrakce (metoda 3541), extrakce tlakovou tekutinou (metoda 3545), mikrovlnná extrakce (metoda 3546), ultrazvuková extrakce (metoda 3550) nebo extrakce superkritickou tekutinou (metoda 3562). Získané extrakty lze přečistit podle jejich povahy např. oxidem hlinitým (metoda 3610), Florisilem (selektivní absorbent, metoda 3620), na silikagelu (metoda 3630), pomocí gelové permeační chromatografie (metoda 3640) nebo sírou (metoda 3660). Následně provést analýzu pomocí plynové chromatografie s detektorem elektronového záchytu nebo vodivostním detektorem [103].

US EPA 8275A (podle IBI)

Zhruba 0,003-0,250 g vzorku umístit do tepelné extrakční komory, zahřát na 340 °C a držet tuto teplotu po dobu 3 minut. Následně vzorek analyzovat pomocí plynové chromatografie. U nástřiku se splitem je poměr rozdělení 35:1 pro vzorky s nižší koncentrací PCB a 400:1 pro vzorky s vysokou koncentrací PCB. Detekce je provedena pomocí hmotnostní spektrometrie [104].

VDLUFA VII 3.3.2.2 (DIN-PCB; extrakce za tepla, GC/MS) (podle evropské legislativy EBC)

Materiál rozdrtit na prášek (<1 mm) a sušit v sušárně při maximální teplotě 35 °C. Lze sušit i chemicky nebo lyofilizací.

5 až 10 g vzorku extrahovat Soxhletovou extrakcí po dobu 6 hodin toluenem s přidáním vhodných vnitřních standardů, lze využít i extrakci PSE.

Extrakt se koncentruje a čistí pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu. Eluční směs se volí podle konkrétních látek.

Analýza pomocí GC-MS nebo GC-ECD [7].

### **6.2 Metody využívané pro stanovení PAU**

#### **6.2.1 Pracovní postupy metod**

US EPA 8270E (2007) (podle IBI)

Přípravu a extrakci vzorku pro analýzu pomocí GC/MS provést podle metody 3500. Pro extrakci vzorku lze zvolit několik typů extrakcí, a to: Soxhletovu extrakci, automatizovanou Soxhletovu extrakci, extrakci ultrazvukem, extrakci superkritickou tekutinou, extrakci za zvýšeného tlaku nebo mikrovlnnou extrakci. Následně je extrakt sušen a zakoncentrován. Vzorek je následně v případě potřeby přečištěn. Analýza je provedena pomocí GC/MS [105].

US EPA 3540 (podle IBI)

Vzorek po smíchání s bezvodým síranem sodným extrahovat pomocí Soxhletovy extrakce v patroně nebo mezi zátkami ze skelné vaty. Extrakt je následně sušen a zakoncentrován a v případě potřeby přečištěn [106].



DIN EN 15527: 2008-09 (extrakce toluenem), DIN ISO 13877: 1995-06 (princip B s GC-MS) a DIN EN 16181: 2017-11 (s extrakcí metoda 2) (podle EBC)

Do extrakční patryny odvážit 2,5 g drceného a vysušeného vzorku a extrahovat 50 ml toluenu za refluxu po dobu 2 hodin. Následně extrakt zahustit na objem 10 ml a alikvotní část převést vialky. Následně provést analýzu pomocí plynové chromatografie [7].

**Tabulka 17: Nastavení plynové chromatografie [7]**

|                      |   |
|----------------------|---|
| plynový chromatograf | Network GC System 7890N a 5975C MSD a inertXL AS 7693 Fa: Agilent Techn |
| kapilární kolona     | HP 5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)                                       |
| teplotní program     | 90 °C po dobu 0,5 min   |
|                      | zahřívání 20 °C/min na 250 °C   |
|                      | zahřívání 5 °C/min na 275 °C  |
|                      | zahřívání 20 °C/min na 320 °C (držet 5 min)                             |
| transfer line        | 280 °C  |
| teplota MSD          | 150 °C  |
| vstřikovaný objem    | 1 µl  |
| teplota injektoru    | 250 °C  |
| nosný plyn           | helium (1,5 ml/min)   |

### **6.3 Metody využívané pro stanovení PCDD a PCDF**

V evropské legislativě EBC je uvedena jako testovací metoda AIR DF 100, HRMS [7].

#### **6.3.1 Pracovní postupy metod**

US EPA 8290A (2007) (podle IBI)

Vzorek lze extrahovat toluenem Soxhletovou extrakcí, extrakcí tlakovou tekutinou nebo mikrovláknou extrakcí. Získané extrakty lze vyčistit pomocí sloupcové chromatografie, aluminou nebo aktivního uhlí. Před analýzou vysokorozlišovací GC/MS ke vzorkům přidat izotopicky značené standardy 13C12-1,2,3,4-TCDD (ke stanovení procenta výtěžků tetra- a pentachlorovaných kongenerů) a 13C12-1,2,3,7,8,9-HxCDD (ke stanovení procenta výtěžků hexa-, hepta- a oktachlorovaných kongenerů). K úspěšné analýze je potřeba, aby byl přístroj schopen sledovat vybrané ionty při rozlišovací schopnosti alespoň 10000 [107].

US EPA 8280B (podle IBI)

Vzorky lze extrahovat toluenem pomocí Soxhleta, extrakcí stlačenou tekutinou nebo mikrovláknou extrakcí. Pro zjištění účinnosti procesu čištění přidat po extrakci ke každému vzorku izotopicky značený vnitřní standard (2,3,7,8-TCDD). Čištění vzorků lze provést gelovou permeační chromatografií, aluminou, silikagelem, Florisilem, nebo aktivním uhlím. Po vyčištění vzorek odpařit téměř do sucha a jsou přidány vnitřní standardy. Analýzu provést pomocí GC/MS [108].

VDLUFA VII 3.3.2.4 (PCDD+PCDF+koplanární PCB; GC/HRMS) (podle EBC)

Materiál rozdrtit na prášek (<1 mm) a sušit v sušárně při maximální teplotě 35 °C. Lze sušit i lyofilizací.

Po přidání izotopicky označených standardů (13C12) 2 g vzorku extrahovat toluenem v Soxhletu po dobu 20 hodin. Lze využít i extrakci PSE.

Surový extrakt se předčistí sloupcovou chromatografií na silikagelu-oleum. Další čištění se provede adsorpcí na aktivním uhlí a přidáním vzorku k tukové modři B. Následně je vzorek dočištěn na sloupci oxidu hlinitého.

Analýza pomocí GC/HRMS nebo GC/MS v metodě SIM [7].

## **7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **7.1 Zkoumané vzorky**

Všechny zkoumané vzorky byly dodány výzkumným centrem AdMaS (kromě vzorku Prekurzor 300 byly vzorky dodány v roce 2018). Analýza byla provedena u vzorku vstupního materiálu – sušeného čistírenského kalu a u vzorku výstupního materiálu – biocharu. Vzorky byly očíslovány centrem AdMaS podle typu vzorku, zdroje převažující vstupní suroviny a podle úpravy vstupního materiálu a přidaných příměsí.

Vzorky byly získány z ČOV Brno (Modřice), která má projektovanou kapacitu 515 000 ekvivalentních obyvatel. Byly upraveny pomocí peletizace a pro zlepšení kvality získaného biouhlu byla k čistírenskému kalu přidána příměs organického materiálu (modifikátor).

Mikrovlnná torefakce probíhala při následujících podmínkách:

- výkon: 2,7 kW
- vlnová délka: 60 mm
- vzdálenost hladiny od vlnovodu: 100 mm
- doba ozařování: 60 min

#### **7.1.1 Vzorek číslo 214 193**

Tento vzorek byl použit pro optimalizaci extrakční metody. Jedná se o výstupní materiál.

#### **7.1.2 Vzorek číslo 114 210**

Jedná se o vstupní materiál, ke kterému byly přidány plevy (30 % hmotnosti peletizovaného kalu) jako modifikátor.

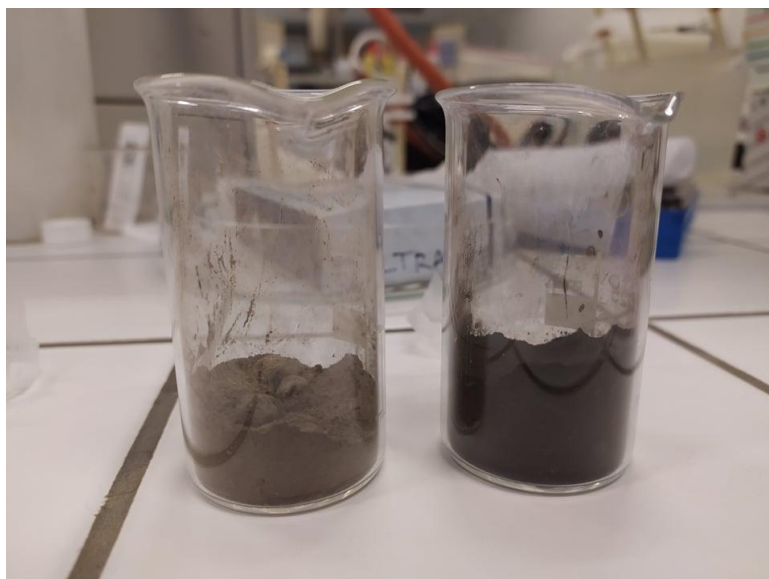
#### **7.1.3 Vzorek číslo 214 210**

Tento vzorek je produktem pyrolýzy vstupního materiálu číslo 114 210. Jako modifikátor byly využity plevy (30 % hmotnosti poetizovaného kalu).

Vzorek číslo 114 210 a 214 210 byly využity pro porovnání obsažených látek ve vstupním a výstupním materiálu.

#### **7.1.4 Prekurzor 300**

Vzorek byl dodán v letošním roce centrem AdMaS pro stanovení obsažených těžkých kovů. Jedná se o vstupní materiál, ke kterému nebyl přidán organický materiál.



Obrázek 9: Vzorky zkoumaného materiálu (zleva - vstupní materiál č. 114 210, výstupní materiál č. 214 210)

## 7.2 Přístroje a software

- Analytické váhy (Kern 770)
- Oscilační mlýn MM 200 (Retsch Verder s.r.o.)
- Extraktor onePSE (Applied Separations)
- Rotační vakuová odparka Rotavapor R-205 (BÜCHI)
- Plynový chromatogram: SCION 436-GC (Bruker)
- Hmotnostní spektrometr: EVOQ TQ (Bruker)
- Plynový chromatograf: 6890N Network GC systém (Agilent Technologies)
- Hmotnostní spektrometr: Pegasus III (LECO)
- Hardware kontrol: Agilent<sup>®</sup> 6890 (option LECO<sup>®</sup> GCxGC)
- Běžné laboratorní vybavení

## 7.3 Použité chemikálie

- Aktivovaný silikagel
- Hydromatrix

### 7.3.1 Zásobní roztoky

- Zásobní roztok PAH – Mix 9 (v cyklohexanu, koncentrace jednotlivých PAU 10 ng/μl) (Absolute Standards, Inc.)

Tabulka 18: Obsažené PAU v zásobním roztoku

|             |            |                     |                       |
|-------------|------------|---------------------|-----------------------|
| naftalen    | fenanthren | fluoranthen         | benzo[b]fluoranthen   |
| pyren       | anthracen  | benz[a]anthracen    | benzo[ghi]perylen     |
| acenaften   | chrysen    | benzo(k)fluoranthen | dibenzo(a,h)anthracen |
| acenaftylen | fluoren    | benzo[a]pyren       | indeno[1,2,3-cd]pyren |

- Zásobní roztok PCB izomer Standard „Dutch 7“ (v izooktanu, koncentrace jednotlivých PCB 10 µg/ml) (Absolute Standards, Inc.)

**Tabulka 19: Obsažené kongenery PCB v zásobním roztoku**

|         |         |
|---------|---------|
| PCB 28  | PCB 138 |
| PCB 52  | PCB 153 |
| PCB 101 | PCB 180 |
| PCB 118 |         |

- Zásobní roztok PAH Standard (v dichlormethanu, koncentrace deuterovaných PAU 2000 µg/ml) (Absolute Standards, Inc.)

**Tabulka 20: Obsažené deuterované PAU v zásobním roztoku**

|               |                |
|---------------|----------------|
| acenaften-d10 | perylene-d12   |
| chrysen-d12   | fenanthren-d10 |
| naftalen-d8   |                |

- Zásobní roztok PAH Standard 38 components (v dichlormethanu, koncentrace jednotlivých látek 100 µg/ml) (Absolute Standards, Inc.)

**Tabulka 21: Obsažené látky v zásobním roztoku**

|                                |                      |                       |                       |
|--------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 7,12-dimethylbenzo[a]anthracen | akridin              | chrysen               | indeno[1,2,3-cd]pyren |
| 1-methylnaftalen               | anthracen            | dibenzo[a,h]anthracen | indol                 |
| 2,3,5-trimethylnaftalen        | benzo[a]anthracen    | dibenzofuran          | isochinolin           |
| 2,3-benzofuran                 | benzo[a]pyren        | dibenzothiofen        | karbazol              |
| 2,6-dimethylnaftalen           | benzo[b]fluoranthren | fenanthren            | naftalen              |
| 2-methylnaftalen               | benzo[e]pyren        | fenanthridin          | perylene              |
| 3-methylcholanthren            | benzo[ghi]perylene   | fluoranthren          | pyren                 |
| 1-methylfenanthren             | benzo(k)fluoranthren | fluoren               | thianafthen           |
| acenaften                      | bifenylyl            | indan                 |                       |
| acenaftylen                    | chinolin             | inden                 |                       |

### 7.3.2 Rozpouštědla

- Isooktan p.a. (MERCK)
- Toluén pro HPLC (HiPerSolv CHROMANORM)
- n-Hexan pro HPLC (HiPerSolv CHROMANORM)
- Dichlormethan pro reziduální analýzu pesticidů (Honeywell)

### 7.3.3 Technické plyny

- dusík
- helium

## 7.4 Pracovní postupy

### 7.4.1 Kalibrační křivka

Pro kalibrační křivku bylo připraveno ředěním zásobních roztoků isooktanem 9 roztoků o koncentracích 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500, 750 a 1000 ng/ml. Zásobní roztoky byly ředěny

isooktanem. Do všech roztoků bylo následně přidáno 10  $\mu\text{l}$  vnitřního standardu zředěného na koncentraci 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (ředěno isooktanem). Po změření bylo zjištěno, že koncentrace vnitřního standardu je příliš vysoká, proto bylo později přidáváno 5  $\mu\text{l}$ .

Všechny pipetované objemy byly váženy na analytických vahách a pomocí hustoty rozpouštědla byl vypočítán skutečný přidáný objem a přesná koncentrace.

#### 7.4.2 Příprava vzorků

Pro následnou optimalizaci metody analýzy vzorku byly zvoleny 2 různé velikosti částic vzorku, a to jemný prášek a částice o velikosti 1-2 mm. Jako vzorek byl použit biouhel číslo 214 193.

Na jemný prášek byly peletky mlety mlynem při frekvenci 25 Hz po dobu 15 minut.

Na větší částice byly peletky rozdraceny ručně. Následně byly pomocí sítí rozděleny na frakce, z nichž byla vybrána velikost částic 1-2 mm.



Obrázek 10: Vzorek biouhlu (zleva - frakce 1-2 mm; jemný prášek)

#### 7.4.3 Extrakce vzorků

Pro extrakci byly zvoleny 2 různá rozpouštědla, a to toluen a směs hexanu a dichlormethanu smíchaných v poměru 1:1.

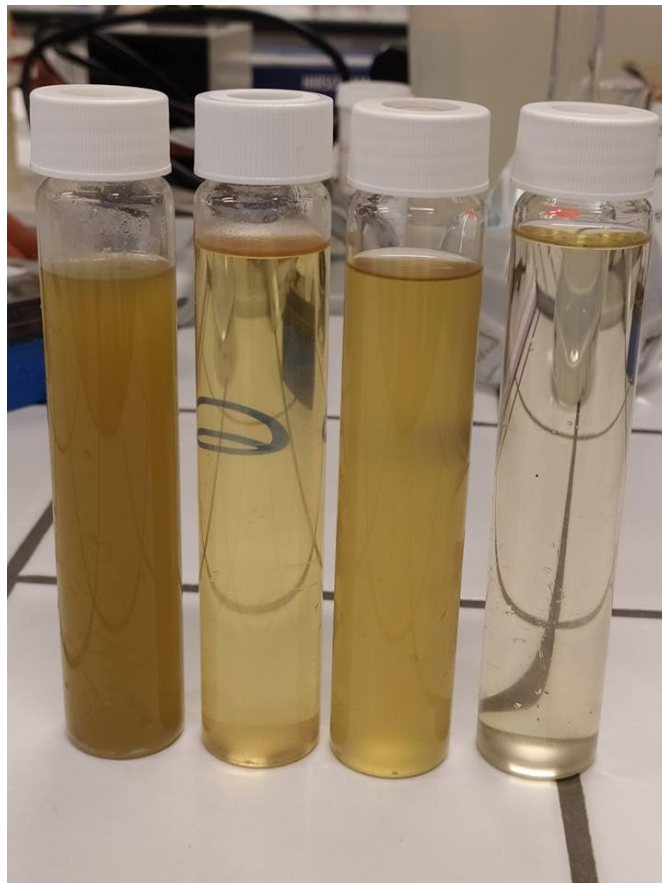
Do patrony byly naváženy 2 g vzorku, které byly smíchány s přibližně stejným množstvím hydromatrix. Extrakce u obou rozpouštědel probíhaly ve 3 cyklech, kdy doba zdržení rozpouštědla v patroně při 1 cyklu byla 15 minut. Extrakce s využitím toluenu probíhala při teplotě 130  $^{\circ}\text{C}$  a tlaku 140 bar. Při extrakci s využitím směsi hexanu a dichlormethanu byla teplota 80  $^{\circ}\text{C}$  a tlak 120 bar.

Pro každé rozpouštědlo byl proveden slepý pokus, kdy byla patrona naplněna pouze skleněnými kuličkami a vnitřním standardem.

Extrakce byly provedeny ve 3 opakováních. Při optimalizaci metody byl ke každému vzorku přidán v různé fázi extrakce vnitřní standard. Standard byl přidáván buďto před extrakcí,

po extrakci nebo po následném čištění sloupcovou chromatografií. U následných analýz byl přidán standard vždy před extrakcí.

Extrakce vzorku prekurzor 300 byla provedena pouze ve 2 opakováních. Důvodem byla porucha extraktoru, která nebyla vyřešena ani po výměně těsnění. Přístroj nebyl schopen dosáhnout požadovaného tlaku.

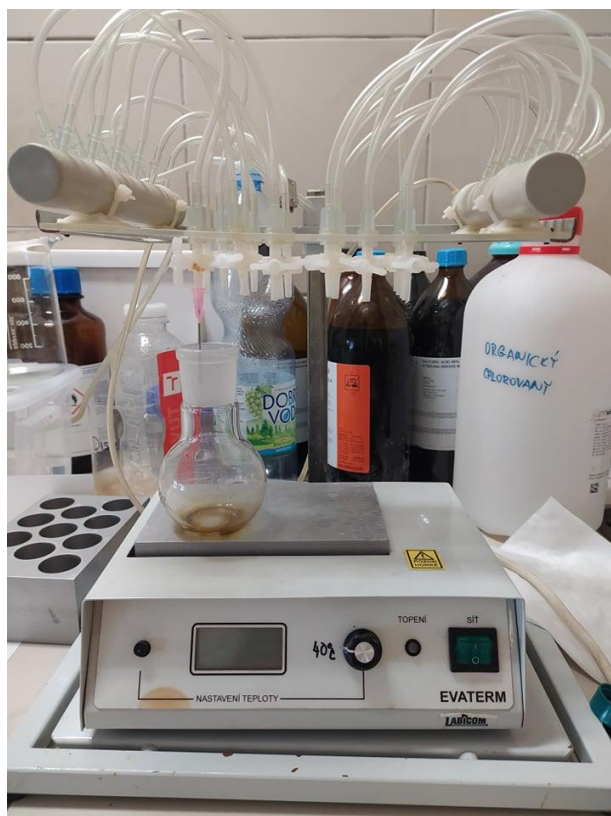


*Obrázek 11: Získané extrakty (vzorky zleva - vstupní materiál - rozpouštědlo toluen; výstupní materiál - rozpouštědlo toluen; vstupní materiál - rozpouštědlo hexan + dichlormethan; výstupní materiál - rozpouštědlo hexan + dichlormethan)*

Pro odpaření získaných extraktů byly použity 2 různé metody. V prvním případě byly vzorky odpařeny pod dusíkem na objem cca 1 ml a následně byly v případě potřeby přečištěny pomocí sloupcové chromatografie. Ve druhém případě byly extrakty zahuštěny pomocí rotační vakuové odparky a následně byly vysušeny pod dusíkem do sucha. K odpařeným vzorkům byl přidán 1 ml isooktanu a pro přečištění byl použit stříkačkový filtr. Následně byl přidán do odpařovací baňky 1 ml toluenu, ve kterém byly rozpuštěny zbylé látky, které nebyly rozpuštěny v isooktanu.

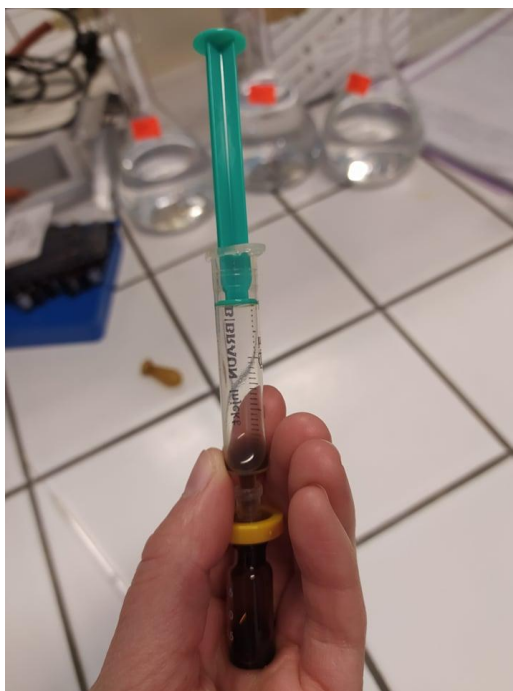


Obrázek 12: Odpařování extraktu na rotační vakuové odparce



Obrázek 13: Odpařování extraktu pomocí dusíku





Obrázek 14: Čištění vzorku pomocí stříkačkového filtru

#### **7.4.4 Čištění vzorků pomocí sloupcové chromatografie**

Nejprve byl v sušárně při 180 °C po dobu 3 hodin aktivován silikagel.

Kolony byly klepány za mokra do výšky vrstvy silikagelu cca 10 cm. Jako rozpouštědlo byl použit hexan, kterým byla kolona před klepáním naplněna. Po odkapání přebytečného hexanu byl na silikagel nanesen vzorek pomocí Pasteurovy pipety. Po vsáknutí vzorku bylo přidáno 5 ml hexanu, po odkapání hexanu bylo na kolonu přidáno 20 ml zvolených rozpouštědel. Pro optimalizaci metody byly zvoleny: toluen, dichlormethan a směs hexanu a dichlormethanu v poměru 1:1. Tyto frakce byly jímány do vialek a následně odpařeny do sucha pod dusíkem. Následně byly vzorky rozpuštěny v 1 ml isooktanu.

##### **7.4.4.1 Volba vhodného elučního činidla**

Pro výběr nejvhodnějšího rozpouštědla byly připraveny ze zásobních roztoků roztoky analytů o známé koncentraci (500 ng/ml) a byla zjišťována výtěžnost jednotlivých metod. Čištění na koloně bylo provedeno ve 3 opakováních. Během čištění byl pohyb analytů kontrolován pomocí UV lampy – u PAU byla sledována fluorescence.



*Obrázek 15: Čištění vzorků sloupcovou chromatografií*

## **7.4.5 Plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS)**

### **7.4.5.1 Bruker**

Při měření na přístroji od firmy Bruker byly použity 2 různé kolony. Během doby, kdy bylo měřeno na přístroji, byl vyčištěn iontový zdroj, vyměněny liner a stříkačka v autosampleru. Byla to snaha o zvýšení reprodukovatelnosti nástřiku vzorku. Zkouška byla provedena tak, že byl 9x po sobě nastříknut roztok 5  $\mu$ l vnitřních standardů v toluenu. Intenzita signálu se výrazně v průběhu měření snižovala (viz. Obrázek 36 v Příloze). Výměna nepomohla, později však bylo zjištěno, že problémem je malé množství vzorku ve vialce, tudíž nebyl nabírán požadovaný objem.

**Tabulka 22: Nastavení plynového chromatografu a hmotnostního spektrometru s kolonou SLB™-5ms**

|                             |                                     |
|-----------------------------|-------------------------------------|
| doba analýzy                | 32,67 minut                         |
| průtok nosného plynu        | 1,20 ml/min                         |
| objem nastříkovaného vzorku | 1 µl                                |
| teplota injektoru           | 280 °C                              |
| teplota transfer line       | 280 °C                              |
| kolona                      | SLB™-5ms (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) |
| počátek ukládání dat        | 7 minut                             |
| teplotní program            | 80 °C po dobu 1 minuty              |
|                             | zahřívání 15 °C/min na 330 °C       |
|                             | 330 °C po dobu 15 minut             |
| teplota iontového zdroje    | 260 °C                              |
| rozsah sledovaných hmot     | 30 – 450 u                          |
| detektor                    | kvadrupol                           |

**Tabulka 23: Nastavení plynového chromatografu a hmotnostního spektrometru s kolonou DB-EUPAH**

|                             |                                     |
|-----------------------------|-------------------------------------|
| doba analýzy                | 22 minut                            |
| průtok nosného plynu        | 0,70 ml/min                         |
| objem nastříkovaného vzorku | 1 µl                                |
| teplota injektoru           | 270 °C                              |
| teplota transfer line       | 280 °C                              |
| kolona                      | DB-EUPAH (20 m x 0,18 mm x 0,14 µm) |
| počátek ukládání dat        | 2,80 minut                          |
| teplotní program            | 80 °C po dobu 1 minuty              |
|                             | zahřívání 15 °C/min na 320 °C       |
|                             | 320 °C po dobu 5 minut              |
| teplota iontového zdroje    | 260 °C                              |
| rozsah sledovaných hmot     | 30 – 400 u                          |
| detektor                    | kvadrupol                           |

#### 7.4.5.1.1 Metoda SCAN (skenování)

**Tabulka 24: Nastavení při nástřiku split**

| čas [min] | dělicí poměr |
|-----------|--------------|
| počátek   | 20           |
| 0,00      | 20           |
| 1,00      | 50           |
| 5,00      | 10           |

**Tabulka 25: Nastavení při nástřiku splitless**

| <b>čas [min]</b> | <b>dělicí poměr</b> |
|------------------|---------------------|
| počátek          | vypnuto             |
| 0,00             | vypnuto             |
| 1,00             | 50                  |
| 5,00             | 10                  |

#### **7.4.5.1.2 Metoda SIM**

Nastavení metody SIM bylo provedeno na základě měření metodou SCAN při nástřiku splitless. Pro měření byl zvolen kalibrační roztok o koncentraci 1000 ng/ml. Následně byly pomocí knihovny spekter identifikovány jednotlivé analyty a pro metodu SIM nastaveny retenční časy a hmoty pro kvalifikaci a kvantifikaci. Porovnání chromatogramů získaných metodou skenování a SIM na vzorku kalibračního roztoku o koncentraci 1000 ng/ml je uvedeno v Příloze (Obrázek 35).

**Tabulka 26: Nastavení metody SIM při koloně SLB™-5ms**

| analyt                | retenční čas<br>[min] | kvalifikační<br>iont [m/z] |        | kvantifikační<br>iont [m/z] |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------|--------|-----------------------------|
|                       |                       |                            |        |                             |
| naftalen-d8           | 9,07                  | 32,21                      | 108,02 | 136,05                      |
| naftalen              | 9,11                  | 63,00                      |        | 128,00                      |
| acenaftylen           | 11,68                 | 150,98                     | 149,99 | 152,01                      |
| acenaften-d10         | 11,90                 | 164,10                     | 160,07 | 162,05                      |
| acenaften             | 11,95                 | 154,08                     | 151,94 | 153,03                      |
| fluoren               | 12,75                 | 166,08                     | 82,24  | 165,03                      |
| fenanthren-d10        | 14,33                 | 80,05                      | 187,09 | 188,11                      |
| fenanthren            | 14,37                 | 176,01                     | 152,06 | 178,04                      |
| anthracen             | 14,46                 | 176,03                     | 179,15 | 178,05                      |
| PCB 28                | 14,85                 | 257,86                     | 186,01 | 255,95                      |
| PCB 52                | 15,28                 | 291,90                     | 289,90 | 219,98                      |
| fluoranthren          | 16,32                 | 200,02                     | 201,04 | 202,07                      |
| PCB 101               | 16,41                 | 253,95                     | 255,95 | 325,83                      |
| pyren                 | 16,70                 | 200,04                     | 201,06 | 202,07                      |
| PCB 118               | 17,22                 | 327,88                     | 323,88 | 325,83                      |
| PCB 138               | 17,46                 | 361,77                     | 289,87 | 359,78                      |
| PCB 153               | 17,82                 | 289,92                     | 361,84 | 359,85                      |
| benzo[a]anthracen     | 18,66                 | 226,09                     | 393,77 | 228,10                      |
| PCB 180               | 18,66                 | 326,00                     |        | 394,00                      |
| chrysen-d12           | 18,68                 | -                          |        | 240,00                      |
| chrysen               | 18,73                 | 226,10                     | 229,18 | 228,10                      |
| benzo(b)fluoranthren  | 20,71                 | 250,09                     | 125,98 | 252,11                      |
| benzo[k]fluoranthren  | 20,76                 | 250,11                     | 126,04 | 252,11                      |
| benzo(a)pyren         | 21,46                 | 250,11                     | 126,03 | 252,11                      |
| perylene-d12          | 21,58                 | -                          |        | 264,00                      |
| dibenz[a,h]anthracen  | 24,40                 | 279,10                     |        | 278,13                      |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 24,41                 | 138,01                     |        | 276,10                      |
| benzo[ghi]perylene    | 25,29                 | 136,90                     | 138,02 | 276,12                      |

**Tabulka 27: Nastavení metody SIM při koloně DB-EUPAH pro PAU, PCB a vnitřní standardy**

| analyt                | retenční čas<br>[min] | kvalifikační iont<br>[m/z] |        | kvantifikační<br>iont [m/z] |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------|--------|-----------------------------|
|                       |                       |                            |        |                             |
| naftalen-d8           | 4,96                  | 108,16                     | 137,21 | 136,16                      |
| naftalen              | 4,99                  | 136,16                     | 127,13 | 128,11                      |
| acenaftylen           | 7,72                  | 151,12                     | 150,10 | 152,12                      |
| acenaften-d10         | 7,86                  | 162,18                     | 160,19 | 164,22                      |
| acenaften             | 7,93                  | 154,15                     | 152,13 | 153,13                      |
| fluoren               | 8,73                  | 165,15                     | 82,54  | 166,17                      |
| fenanthren-d10        | 10,48                 | 80,17                      | 198,25 | 188,23                      |
| fenanthren            | 10,52                 | 176,14                     | 152,15 | 178,17                      |
| anthracen             | 10,57                 | 176,16                     | 179,19 | 178,17                      |
| PCB 28                | 10,73                 | 258,07                     | 186,13 | 256,06                      |
| PCB 52                | 11,15                 | 292,02                     | 222,09 | 220,10                      |
| PCB 101               | 12,23                 | 254,06                     | 256,06 | 325,99                      |
| fluoranthen           | 12,58                 | 200,17                     | 203,22 | 202,19                      |
| pyren                 | 13,06                 | 200,17                     | 201,20 | 202,18                      |
| PCB 118               | 13,11                 | 323,98                     | 327,98 | 325,98                      |
| PCB 138               | 13,26                 | 361,94                     | 290,00 | 359,94                      |
| PCB 153               | 13,80                 | 290,01                     | 361,94 | 359,88                      |
| PCB 180               | 14,49                 | 395,90                     | 323,97 | 393,90                      |
| benzo[a]anthracen     | 15,05                 | 226,19                     | 229,24 | 228,21                      |
| chrysen-d12           | 15,13                 | 236,25                     | 241,31 | 240,29                      |
| chrysen               | 15,19                 | 226,20                     | 229,24 | 228,21                      |
| benzo(b)fluoranthen   | 16,82                 | 250,21                     | 253,24 | 252,22                      |
| benzo[k]fluoranthen   | 16,86                 | 250,21                     | 126,11 | 252,21                      |
| benzo(a)pyren         | 17,49                 | 250,20                     | 253,23 | 252,22                      |
| perylene-d12          | 17,65                 | 132,22                     | 260,24 | 264,28                      |
| dibenz[a,h]anthracen  | 19,73                 | 278,26                     | 32,28  | 276,26                      |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 19,73                 | 278,24                     | 138,10 | 276,21                      |
| benzo[ghi]perylene    | 20,65                 | 138,38                     | 277,23 | 276,21                      |

**Tabulka 28: Nastavení metody SIM při koloně DB-EUPAH pro ostatní stanovované látky**

| <b>analyt</b>                      | <b>retenční čas<br/>[min]</b> | <b>kvalifikační iont<br/>[m/z]</b> |        | <b>kvantifikační<br/>iont [m/z]</b> |
|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|--------|-------------------------------------|
| benzofuran                         | 3,01                          | 118,08                             | 89,07  | 118,08                              |
| indan                              | 3,18                          | 118,11                             | 115,09 | 117,11                              |
| inden                              | 3,43                          | 116,11                             | 32,25  | 116,11                              |
| thianafthen                        | 5,24                          | 89,12                              | 90,14  | 134,07                              |
| chinolin                           | 5,85                          | 102,11                             | 128,11 | 129,11                              |
| 2-methylnafthalen                  | 5,95                          | 141,14                             | 115,12 | 142,14                              |
| isochinolin                        | 6,07                          | 102,10                             | 128,12 | 129,11                              |
| 1-methylnafthalen                  | 6,20                          | 141,13                             | 115,12 | 142,14                              |
| indol                              | 6,55                          | 90,12                              | 89,11  | 117,11                              |
| bifenyl                            | 6,81                          | 153,14                             | 152,13 | 154,15                              |
| 2,6-dimethylnafthalen              | 6,86                          | 141,13                             | 155,17 | 156,16                              |
| dibenzofuran                       | 8,13                          | 139,13                             | 169,18 | 168,13                              |
| 2,3,5-<br>trimethylnafthalen       | 8,24                          | 170,21                             | 153,15 | 170,21                              |
| dibenzothiofen                     | 10,32                         | 139,12                             | 152,14 | 184,12                              |
| akridin                            | 10,84                         | 178,18                             | 89,15  | 179,17                              |
| fenanthridin                       | 11,04                         | 178,18                             | 151,13 | 179,17                              |
| karbazol                           | 11,26                         | 166,16                             | 139,12 | 167,16                              |
| 1-methylfenanthren                 | 11,51                         | 191,20                             | 189,16 | 192,20                              |
| 7,12-dimethylbenzo<br>[a]anthracen | 16,86                         | 252,23                             | 241,24 | 256,25                              |
| benzo[e]pyren                      | 17,40                         | 250,22                             | 253,25 | 252,22                              |
| perylen                            | 17,70                         | 250,20                             | 125,05 | 252,22                              |
| 3-methylcholanthren                | 17,85                         | 252,23                             | 253,23 | 268,26                              |

### 7.4.5.1.3 Metoda GC/MSMS

Nejdříve byly hodnoty nastaveny podle několika článků, které se zabývaly problematikou stanovení PAU a PCB v různých matricích. Bylo vyzkoušeno měření při zvýšení a snížení kolizních energií o 10 eV. Porovnání jednotlivých chromatogramů je uvedeno v Příloze (Obrázek 39). Následně byly vybrány hodnoty energií, při kterých bylo dosaženo nejvyšší intenzity signálu.

**Tabulka 29: Přehled zvolených prekurzorů, produktových iontů a kolizních energií pro PCB**

| analyt  | prekurzor [ $m/z$ ] | produktový iont [ $m/z$ ] | kolizní energie [eV] |
|---------|---------------------|---------------------------|----------------------|
| PCB 28  | 256                 | 186                       | 30                   |
|         | 258                 | 188                       | 30                   |
| PCB 52  | 290                 | 220                       | 30                   |
|         | 290                 | 255                       | 20                   |
| PCB 101 | 324                 | 254                       | 30                   |
|         | 326                 | 258                       | 30                   |
| PCB 118 | 326                 | 256                       | 30                   |
|         | 324                 | 254                       | 30                   |
| PCB 138 | 360                 | 290                       | 30                   |
|         | 358                 | 288                       | 30                   |
| PCB 153 | 360                 | 290                       | 30                   |
|         | 358                 | 288                       | 30                   |
| PCB 180 | 394                 | 324                       | 40                   |
|         | 392                 | 322                       | 25                   |

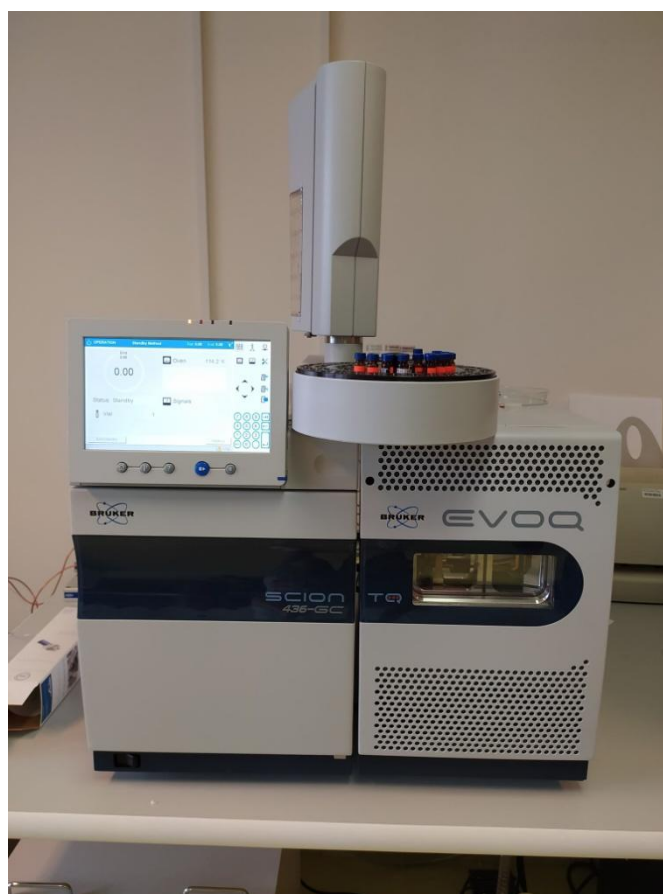


**Tabulka 30: Přehled zvolených prekurzorů, produktových iontů a kolizních energií pro PAU**

| <b>analyt</b>         | <b>prekurzor [m/z]</b> | <b>produktový iont [m/z]</b> | <b>kolizní energie [eV]</b> |
|-----------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| naftalen              | 128                    | 102                          | 30                          |
|                       | 128                    | 127                          | 30                          |
| acenaftylen           | 152                    | 151                          | 30                          |
|                       | 152                    | 126                          | 30                          |
| acenaften             | 154                    | 153                          | 20                          |
|                       | 154                    | 152                          | 33                          |
| fluoren               | 165                    | 163                          | 40                          |
|                       | 168                    | 165                          | 25                          |
|                       | 166                    | 164                          | 50                          |
| fenanthren            | 178                    | 176                          | 35                          |
|                       | 178                    | 152                          | 25                          |
| anthracen             | 178                    | 176                          | 35                          |
|                       | 178                    | 152                          | 25                          |
| fluoranthren          | 202                    | 200                          | 40                          |
|                       | 202                    | 152                          | 40                          |
| pyren                 | 202                    | 200                          | 30                          |
|                       | 202                    | 152                          | 40                          |
| benzo[a]anthracen     | 228,1                  | 226,1                        | 40                          |
|                       | 228,1                  | 202,1                        | 30                          |
| chrysen               | 228,1                  | 226,1                        | 40                          |
|                       | 228,1                  | 202,1                        | 30                          |
| benzo(b)fluoranthren  | 252,1                  | 250,1                        | 40                          |
|                       | 252,1                  | 226,1                        | 40                          |
| benzo[k]fluoranthren  | 252                    | 250                          | 20                          |
| benzo(a)pyren         | 252,1                  | 250,1                        | 40                          |
|                       | 252,1                  | 226,1                        | 40                          |
| dibenz[a,h]anthracen  | 278                    | 276                          | 40                          |
|                       | 278                    | 252                          | 30                          |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 276                    | 274                          | 55                          |
|                       | 276                    | 272                          | 60                          |
| benzo[ghi]perylene    | 276                    | 274                          | 55                          |
|                       | 276                    | 272                          | 60                          |

**Tabulka 31: Přehled zvolených prekurzorů, produktových iontů a kolizních energií pro vnitřní standardy**

| analyt         | prekurzor [m/z] | produktový iont [m/z] | kolizní energie [eV] |
|----------------|-----------------|-----------------------|----------------------|
| nafthalen-d8   | 136             | 80                    | 50                   |
|                | 136             | 54                    | 50                   |
|                | 136             | 134                   | 35                   |
| acenaften-d10  | 164             | 160                   | 40                   |
|                | 164             | 162                   | 40                   |
|                | 164             | 134                   | 40                   |
| fenanthren-d10 | 188             | 186                   | 10                   |
|                | 188             | 160                   | 25                   |
| chrysen-d12    | 240             | 240                   | 20                   |
|                | 240             | 236                   | 45                   |
| perylene-d12   | 264             | 264                   | 25                   |
|                | 132             | 132                   | 25                   |



*Obrázek 16: Plynový chromatograf s hmotnostním spektrometrem (Bruker)*

#### **7.4.5.2 Pegasus**

Tento přístroj byl používán v době, kdy byl přístroj Bruker nefunkční. Podle kontrolních hodnot přístroje byl problém s dosažením vakua. Nakonec bylo zjištěno, že byl přepálen

filament v iontovém zdroji a tudíž nevznikaly žádné ionty (chromatogramy byly pouze vodorovné čáry).

**Tabulka 32: Nastavení plynového chromatografu a hmotnostního spektrometru**

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| doba analýzy                      | 2880 s (48 minut)                                     |
| průtok nosného plynu              | 1 ml/min  |
| injektor                          | splitless   |
| objem nastříkovaného vzorku       | 1 µl  |
| teplota injektoru                 | 270 °C  |
| teplota transfer line             | 280 °C  |
| kolona                            | Rxi <sup>TM</sup> -5ms (29,300 m x 0,25 mm x 0,25 µm) |
| počátek ukládání dat              | 540 s (9 minut)                                       |
| teplotní program                  | 80 °C po dobu 1 minuty                                |
|                                   | zahřívání 10 °C/min na 240 °C                         |
|                                   | zahřívání 5 °C/min na 320 °C                          |
|                                   | 320 °C po dobu 15 minut                               |
| teplota iontového zdroje          | 250 °C  |
| rozsah sledovaných hmot           | 50 – 600 u  |
| rychlost snímání                  | 10 spekter/s  |
| detektor                          | TOF   |
| napětí na detektoru <sup>1)</sup> | postupně vyzkoušeno 1800, 1850 a <b>1900 V</b>        |

<sup>1)</sup> nejlepší výsledky analýzy byly při napětí 1900 V, proto byly dále vzorky při tomto napětí (viz. Obrázek 41 v Příloze)

**Tabulka 33: Nastavené kvantifikační ionty pro jednotlivé analyty**

|                      | kvantifikační iont<br>[u] |                       | kvantifikační iont<br>[u] |
|----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|
| naftalen             | 128                       | benzo[a]pyren         | 252                       |
| acenaftylen          | 152                       | indeno[1,2,3-cd]pyren | 276                       |
| acenaften            | 153                       | dibenz[a,h]anthracen  | 278                       |
| fluoren              | 165                       | benzo[ghi]perylen     | 276                       |
| fenanthren           | 178                       | PCB 28                | 256                       |
| anthracen            | 178                       | PCB 52                | 220                       |
| fluoranthren         | 202                       | PCB 101               | 326                       |
| pyren                | 202                       | PCB 118               | 326                       |
| benz[a]anthracen     | 228                       | PCB 138               | 360                       |
| chrysen              | 228                       | PCB 153               | 360                       |
| benzo(b)fluoranthren | 252                       | PCB 180               | 394                       |
| benzo[k]fluoranthren | 252                       |                       |                           |



*Obrázek 17: Plynových chromatograf s hmotnostním spektrometrem (LECO)*

## 7.5 Výsledky a diskuze

Z časových důvodů byly stanovovány pouze PCB a PAU. PCDD a PCDF se vyskytují v biouhlech ve velmi nízké koncentraci, které je většinou pod limitem detekce.

### 7.5.1 Regresní rovnice kalibračních přímek

Regresní přímkly byly sestaveny pro jednotlivé metody a kolony. K vyhodnocení vzorků byly použity plochy píků.

Při sestavování kalibračních přímek byla nastavena závislost při zohlednění nižších koncentrací jako  $1/x$ , která během různých vyhodnocování vyšla nejlépe.

**Tabulka 34: Regresní rovnice kalibračních přímek pro stanovení vhodné velikosti částic a extrakčního činidla**

|                     |                          |                       |                          |
|---------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| acenaftalen         | $y = 464522x + 3685,76$  | benzo[ghi]perylen     | $y = 1213,71x - 738,88$  |
| acenaften           | $y = 4197,28x + 8509,62$ | naftalalen            | $y = 8654,73x + 1,86e+4$ |
| fluoren             | $y = 2957,57x + 220,35$  | indeno[1,2,3-cd]pyren | $y = 1253,99x - 7529,79$ |
| fenanthren          | $y = 3624,87x - 1199,71$ | dibenz[a,h]anthracen  | $y = 980,03x - 4235,07$  |
| anthracen           | $y = 3824,63x - 3028,09$ | PCB 28                | $y = 928,93x - 1949,39$  |
| fluoranthen         | $y = 2453,18x + 6720,09$ | PCB 52                | $y = 773,09x + 307,29$   |
| pyren               | $y = 2781,24x + 3586,66$ | PCB 101               | $y = 413,81x + 276,54$   |
| benz[a]anthracen    | $y = 3628,47x + 4501,01$ | PCB 118               | $y = 489,01x + 770,98$   |
| chrysen             | $y = 832,82x + 2564,40$  | PCB 138               | $y = 366,10x - 581,81$   |
| benzo[b]fluoranthen | $y = 1183,53x - 2480,61$ | PCB 153               | $y = 419,59x - 460,19$   |
| benzo(k)fluoranthen | $y = 2662,36x - 1711,88$ | PCB 180               | $y = 374,00x - 669,98$   |
| benzo[a]pyren       | $y = 799,83x + 591,78$   |                       |                          |

**Tabulka 35: Regresní rovnice kalibračních přímek pro výběr vhodného elučního činidla**

|                     |                          |                       |                          |
|---------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| acenaftalen         | $y = 5488,32x + 2824,43$ | benzo[ghi]perylen     | $y = 1493,27x - 2639,91$ |
| acenaften           | $y = 4775,91x + 5114,76$ | naftalalen            | $y = 1,01e+4x + 1,04e+4$ |
| fluoren             | $y = 3235,18x - 3039,24$ | indeno[1,2,3-cd]pyren | $y = 1379,05x - 1,55e+4$ |
| fenanthren          | $y = 3431,53x - 4454,17$ | dibenz[a,h]anthracen  | $y = 266,67x + 535,95$   |
| anthracen           | $y = 4516,94x - 8012,28$ | PCB 28                | $y = 988,33x - 4568,80$  |
| fluoranthen         | $y = 3343,81x - 4293,36$ | PCB 52                | $y = 823,31x - 1347,65$  |
| pyren               | $y = 3530,30x - 1,63e+4$ | PCB 101               | $y = 495,17x - 234,54$   |
| benz[a]anthracen    | $y = 3847,47x - 1279,34$ | PCB 118               | $y = 509,15x + 73,68$    |
| chrysen             | $y = 1242,22x + 1880,30$ | PCB 138               | $y = 358,48x - 792,36$   |
| benzo[b]fluoranthen | $y = 1175,26x - 4897,38$ | PCB 153               | $y = 416,91x - 1153,16$  |
| benzo(k)fluoranthen | $y = 3134,10x - 5480,92$ | PCB 180               | $y = 365,80x - 527,43$   |
| benzo[a]pyren       | $y = 1178,20x - 2226,65$ |                       |                          |

**Tabulka 36: Regresní rovnice kalibračních přímek PAU a PCB při měření metodou SIM (rozpouštědlo toluen)**

|                       |                          |                     |                          |
|-----------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| fluoranthen           | $y = 1258,57x + 3208,23$ | acenaften           | $y = 1448,78x + 5602,35$ |
| pyren                 | $y = 1217,92x + 4164,57$ | fenanthren          | $y = 1656,10x + 3948,44$ |
| benz[a]anthracen      | $y = 671,85x + 6251,13$  | anthracen           | $y = 1666,30x + 8567,46$ |
| chrysen               | $y = 697,00x + 3629,50$  | benzo(k)fluoranthen | $y = 344,49x + 2033,40$  |
| benzo[b]fluoranthen   | $y = 315,57x + 1883,95$  | PCB 28              | $y = 803,74x + 496,48$   |
| benzo[a]pyren         | $y = 251,95x + 2344,24$  | PCB 52              | $y = 373,43x + 1817,98$  |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | $y = 164,58x + 398,10$   | PCB 101             | $y = 395,70x + 248,02$   |
| benzo[ghi]perylene    | $y = 116,63x + 1294,04$  | PCB 118             | $y = 365,09x + 324,64$   |
| dibenz[a,h]anthracen  | $y = 174,14x + 228,86$   | PCB 138             | $y = 295,79x + 325,75$   |
| fluoren               | $y = 1357,11x + 3238,54$ | PCB 153             | $y = 242,59x + 305,57$   |
| naftalen              | $y = 2682,44x + 5853,14$ | PCB 180             | $y = 187,67x + 352,44$   |
| acenaftylen           | $y = 2293,33x + 1565,68$ |                     |                          |

**Tabulka 37: Regresní rovnice kalibračních přímek ostatních stanovovaných látek při metodě SIM (rozpouštědlo toluen)**

|                      |                          |                                |                          |
|----------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| indan                | $y = 555,06x + 6681,80$  | 2,3,5-trimethylnaftalen        | $y = 1062,17x + 2167,54$ |
| inden                | $y = 1012,46x - 5269,39$ | dibenzothiofen                 | $y = 1304,62x + 9,55e+4$ |
| thianaften           | $y = 1937,56x - 4060,78$ | akridin                        | $y = 1209,78x + 8078,28$ |
| chinolin             | $y = 1708,28x + 1671,06$ | fenanthridin                   | $y = 1213,98x + 9521,73$ |
| 2-methylnaftalen     | $y = 1337,99x + 1971,18$ | karbazol                       | $y = 1573,91x + 3503,65$ |
| isochinolin          | $y = 1484,59x - 3928,29$ | 1-methylfenanthren             | $y = 1053,78x + 3460,37$ |
| 1-methylnaftalen     | $y = 1558,31x + 3736,95$ | benzo[e]pyren                  | $y = 228,50x + 2528,55$  |
| indol                | $y = 1684,98x + 1,24e+4$ | perylene                       | $y = 232,21x + 4916,38$  |
| bifenyl              | $y = 1901,43x + 5746,85$ | 3-methylcholanthren            | $y = 125,76x + 5659,21$  |
| 2,6-dimethylnaftalen | $y = 1283,21x + 4544,96$ | 7,12-dimethylbenzo[a]anthracen | $y = 138,26x + 3759,13$  |
| dibenzofuran         | $y = 1618,54x + 1345,86$ | benzofuran                     | $y = 13,84x + 591,23$    |

**Tabulka 38: Regresní rovnice kalibračních přímek PAU a PCB při měření metodou SIM (rozpouštědlo isooktan)**

|                       |                          |                     |                          |
|-----------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| fluoranthen           | $y = 1258,57x + 3208,23$ | acenaften           | $y = 1448,78x + 5602,35$ |
| pyren                 | $y = 1220,15x + 2970,71$ | fenanthren          | $y = 1660,16x + 3962,90$ |
| benz[a]anthracen      | $y = 640,57x + 6497,04$  | anthracen           | $y = 1670,18x + 4376,27$ |
| chrysen               | $y = 679,06x + 3770,88$  | benzo(k)fluoranthen | $y = 344,68x + 1861,84$  |
| benzo[b]fluoranthen   | $y = 325,46x + 1312,16$  | PCB 28              | $y = 803,74x + 496,48$   |
| benzo[a]pyren         | $y = 269,57x + 2047,59$  | PCB 52              | $y = 606,27x + 740,62$   |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | $y = 164,06x + 357,09$   | PCB 101             | $y = 395,70x + 248,02$   |
| benzo[ghi]perylene    | $y = 113,55x + 3002,74$  | PCB 118             | $y = 365,09x + 324,64$   |
| dibenz[a,h]anthracen  | $y = 169,64x + 542,39$   | PCB 138             | $y = 295,79x + 325,75$   |
| fluoren               | $y = 1356,67x + 3631,78$ | PCB 153             | $y = 242,59x + 305,57$   |
| naftalen              | $y = 2685,84x + 3856,82$ | PCB 180             | $y = 187,67x + 352,44$   |
| acenaftylen           | $y = 2293,33x + 1565,68$ |                     |                          |

**Tabulka 39: Regresní rovnice kalibračních přímek ostatních stanovovaných látek při měření metodou SIM (rozpuštědlo isooktan)**

|                      |                          |                                |                          |
|----------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| indan                | $y = 404,38x - 2299,07$  | 2,3,5-trimethylnaftalen        | $y = 1062,23x + 2110,79$ |
| inden                | $y = 992,91x - 1,04e+4$  | dibenzothiofen                 | $y = 1304,58x + 9,54e+4$ |
| thianaften           | $y = 1936,07x - 2719,45$ | akridin                        | $y = 1210,79x + 7175,40$ |
| chinolin             | $y = 1710,90x - 409,23$  | fenanthridin                   | $y = 1213,41x + 1,00e+4$ |
| 2-methylnaftalen     | $y = 1338,69x + 1346,86$ | karbazol                       | $y = 1573,91x + 3503,65$ |
| isochinolin          | $y = 1482,66x - 4144,32$ | 1-methylfenanthren             | $y = 1053,78x + 3460,37$ |
| 1-methylnaftalen     | $y = 1562,19x + 2234,91$ | benzo[e]pyren                  | $y = 243,93x + 1710,39$  |
| indol                | $y = 1685,85x + 1,17e+4$ | perylene                       | $y = 232,21x + 4916,38$  |
| bifenyl              | $y = 1901,43x + 5746,85$ | 3-methylcholanthren            | $y = 125,76x + 5659,21$  |
| 2,6-dimethylnaftalen | $y = 1286,82x + 3358,58$ | 7,12-dimethylbenzo[a]anthracen | $y = 139,96x + 2235,29$  |
| dibenzofuran         | $y = 1618,54x + 1345,86$ | benzofuran                     | $y = 934,33x - 2852,91$  |

**Tabulka 40: Regresní rovnice kalibračních přímek při měření s hmotnostním spektrometrem Pegasus**

|                      |                          |                       |                          |
|----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| naftalen             | $y = 5733,08x + 24206,5$ | benzo[a]pyren         | $y = 911,987x - 20986,8$ |
| acenaftylen          | $y = 3627,55x + 28951,1$ | indeno[1,2,3-cd]pyren | $y = 694,908x - 217003$  |
| acenaften            | $y = 2681,03x + 34944,1$ | dibenz[a,h]anthracen  | $y = 446,191x - 85520,3$ |
| fluoren              | $y = 2408,93x + 38096,2$ | benzo[ghi]perylene    | $y = 382,409x - 43713,5$ |
| fenanthren           | $y = 2868,79x + 30889,3$ | PCB 28                | $y = 2155,69x + 7575,66$ |
| anthracen            | $y = 2524,56x - 4653,38$ | PCB 52                | $y = 1773,95x + 13067,5$ |
| fluoranthren         | $y = 2617,7x + 3444,14$  | PCB 101               | $y = 1095,03x + 3415,41$ |
| pyren                | $y = 2744,02x + 5027,62$ | PCB 118               | $y = 1007,16x + 4259,73$ |
| benz[a]anthracen     | $y = 1369,04x - 23088,5$ | PCB 138               | $y = 885,822x + 1772,51$ |
| chrysen              | $y = 2029,1x - 18994,2$  | PCB 153               | $y = 755,602x + 3562,42$ |
| benzo[b]fluoranthren | $y = 1079,82x - 42165,1$ | PCB 180               | $y = 589,401x + 3517,54$ |
| benzo(k)fluoranthren | $y = 1623,97x - 58544,6$ |                       |                          |

**Tabulka 41: Regresní rovnice kalibračních přímek při metodě GC/MSMS**

|                       |                          |                      |                          |
|-----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|
| fluoranthren          | $y = 1325,32x + 1,47e+4$ | dibenz[a,h]anthracen | $y = 117,56x + 4346,45$  |
| pyren                 | $y = 1101,01x + 2,98e+4$ | fluoren              | $y = 3624,92x + 1,37e+4$ |
| benz[a]anthracen      | $y = 937,01x + 3,79e+4$  | naftalen             | $y = 776,96x + 438,42$   |
| chrysen               | $y = 946,18x + 4,13e+4$  | acenaftylen          | $y = 1193,04x + 323,73$  |
| benzo[b]fluoranthren  | $y = 348,01x + 8032,10$  | acenaften            | $y = 4023,61x + 627,30$  |
| benzo[a]pyren         | $y = 246,43x + 2827,17$  | fenanthren           | $y = 1901,32x + 1,45e+4$ |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | $y = 133,88x + 1768,22$  | anthracen            | $y = 1628,87x + 8919,93$ |
| benzo[ghi]perylene    | $y = 101,82x + 5461,31$  | benzo(k)fluoranthren | $y = 181,96x + 2017,33$  |
| PCB 28                | $y = 4066,75x - 726,25$  | PCB 138              | $y = 1704,07x - 853,28$  |
| PCB 52                | $y = 1940,93x - 891,13$  | PCB 153              | $y = 1386,01x - 692,93$  |
| PCB 101               | $y = 2033,06x - 974,87$  | PCB 180              | $y = 900,89x - 594,47$   |
| PCB 118               | $y = 1698,09x - 125,58$  |                      |                          |

### 7.5.2 Limity detekce a kvantifikace

Hodnoty jsou uvedeny jako limitní hodnoty přístroje v jednotkách ng/ml. Limity pro jednotlivé analyty při různých metodách měření byly zjištěny po vyhodnocení výsledků měření kalibračních roztoků podle poměru signálu k šumu (limit detekce <4 a limit kvantifikace <11).

**Tabulka 42: Limity detekce a kvantifikace pro jednotlivé kongenery PCB při různých metodách měření**

| [ng/ml] | SIM |     | MSMS                            |                                 | Pegasus |
|---------|-----|-----|---------------------------------|---------------------------------|---------|
|         | LOD | LOQ | LOD                             | LOQ                             | LOQ     |
| PCB 28  | <5  | <10 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <10     |
| PCB 52  | <5  | <10 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <10     |
| PCB 101 | <5  | <10 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <10     |
| PCB 118 | <5  | <10 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| PCB 138 | <5  | <10 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <10     |
| PCB 153 | <5  | <10 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| PCB 180 | <5  | <10 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |



**Tabulka 43: Limity detekce a kvantifikace pro jednotlivé PAU při různých metodách měření**

|                       | SIM                             |                                 | MSMS                            |                                 | Pegasus |
|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------|
| [ng/ml]               | LOD                             | LOQ                             | LOD                             | LOQ                             | LOQ     |
| fluoranthen           | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| pyren                 | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| benz[a]anthracen      | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| chrysen               | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| benzo[b]fluoranthen   | <5                              | <10                             | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| benzo[a]pyren         | <10                             | <50                             | <1                              | <5                              | <100    |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | <5                              | <10                             | <1                              | <5                              | <500    |
| benzo[ghi]perylen     | <5                              | <10                             | <1                              | <5                              | <100    |
| dibenz[a,h]anthracen  | <5                              | <10                             | <5                              | <10                             | <250    |
| fluoren               | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| naftalen              | pod nejnižším kalibračním bodem | <1                              | <1                              | <5                              | <50     |
| acenaftylen           | pod nejnižším kalibračním bodem | <1                              | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| acenaften             | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| fenanthren            | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| anthracen             | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |
| benzo(k)fluoranthen   | <5                              | <10                             | pod nejnižším kalibračním bodem | pod nejnižším kalibračním bodem | <50     |

### 7.5.3 Stanovené koncentrace

Koncentrace, které podle poměru signálu a šumu byly nižší než limit detekce, jsou v tabulkách podbarveny červeně. Koncentrace nižší než limit kvantifikace jsou v tabulkách podbarveny oranžově. Všechny způsoby extrakcí byly provedeny ve 3 opakováních, v tabulkách jsou uvedeny průměrné hodnoty.

### 7.5.3.1 Výběr vhodné velikosti částic

Pro výběr vhodné velikosti částic vzorků pro analýzu byl použit vzorek číslo 214 193. Byly zkoumány 2 různé velikosti – jemný prášek a frakce o velikosti 1-2 mm. Jako extrakční činidlo byl použit toluen. Extrakty jemného prášku byly více znečištěné, a proto bylo nutné využít sloupcovou chromatografii pro jejich čištění.

Analýza byla provedena pomocí GC/MS (Bruker) s kolonou SLB™-5ms při metodě SIM.

Stanovené koncentrace jednotlivých analytů jsou uvedeny v tabulkách.

Stanovené koncentrace jsou přepočítány na jednotlivé navážky a jsou uvedeny v jednotkách µg/kg vzorku.

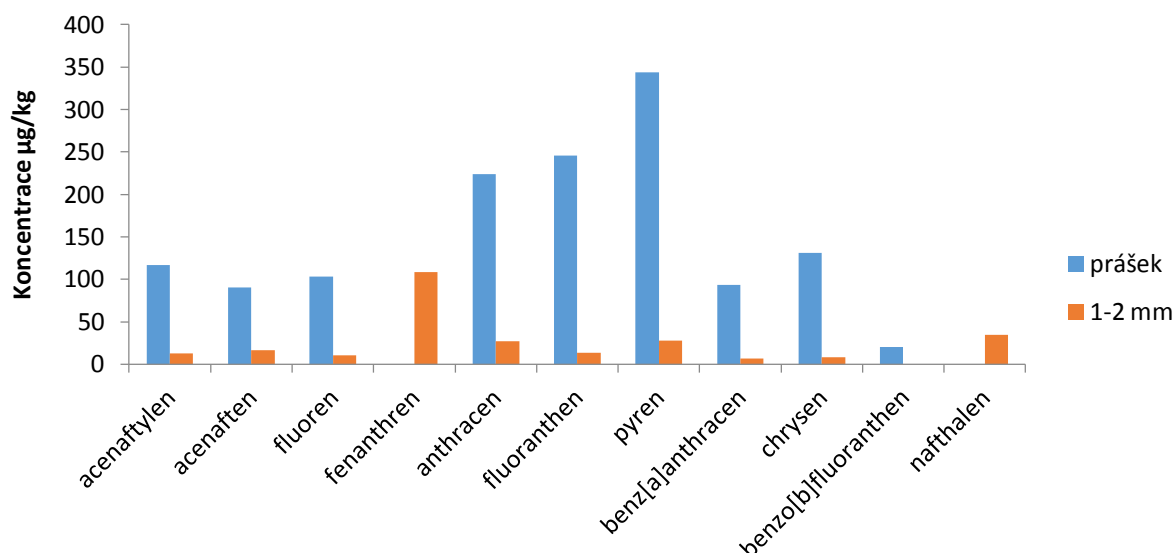
**Tabulka 44: Rozdíly v obsahu PCB v prášku a frakci 1-2 mm**

| [µg/kg] | prášek | 1-2 mm |
|---------|--------|--------|
| PCB 28  | <10    | <10    |
| PCB 52  | <5     | <5     |
| PCB 101 | <50    | <5     |
| PCB 118 | <5     | <5     |
| PCB 138 | <5     | <5     |
| PCB 153 | <5     | <5     |
| PCB 180 | <5     | <5     |

Většina stanovených koncentrací kongenerů PCB byla u obou forem vzorku nižší než limit detekce.

**Tabulka 45: Rozdíly v obsahu PAU v prášku a frakci 1-2 mm**

| [µg/kg]               | prášek                        | 1-2 mm |
|-----------------------|-------------------------------|--------|
| acenaftylen           | 116,85                        | 12,95  |
| acenaften             | 90,56                         | 16,57  |
| fluoren               | 102,95                        | 10,67  |
| fenanthren            | nad nejvyšším bodem kalibrace | 108,73 |
| anthracen             | 223,63                        | 27,21  |
| fluoranthren          | 245,86                        | 13,55  |
| pyren                 | 343,53                        | 28,14  |
| benz[a]anthracen      | 93,25                         | 6,80   |
| chrysen               | 130,85                        | 8,40   |
| benzo[b]fluoranthren  | 20,35                         | <5     |
| benzo(k)fluoranthren  | <10                           | <5     |
| benzo[a]pyren         | <10                           | <10    |
| benzo[ghi]perylen     | <5                            | <5     |
| naftthalen            | nad nejvyšším bodem kalibrace | 34,49  |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | <50                           | <5     |
| dibenz[a,h]anthracen  | <5                            | <5     |



Obrázek 18: Stanovené koncentrace PAU v prášku a frakci 1-2 mm

Z výsledků plyne, že u všech obsažených PAU byla vyšší úspěšnost extrakce u vzorku ve formě jemného prášku. Koncentrace fenanthrenu a naftalenu byla u vzorku ve formě jemného prášku vyšší než nejvyšší bod kalibrace (1000 ng/ml).

Vyšší úspěšnost extrakce je pravděpodobně způsobena větší plochou vzorku, která má kontakt s rozpouštědlem.

### 7.5.3.2 Výběr vhodného extrakčního činidla

Extrakce byly provedeny se vzorky ve formě jemného prášku (vzorek číslo 214 193). Jako extrakční činidla byly použity toluen a směs hexanu s dichlormethanem (v poměru 1:1). Po zahuštění a čištění vzorku byla provedena analýza na přístroji od firmy Bruker s kolonou SLB<sup>TM</sup>-5ms při metodě SIM. Stanovené koncentrace jednotlivých analytů jsou uvedeny v tabulkách.

Tabulka 46: Stanovené koncentrace PCB při využití různých extrakčních činidel

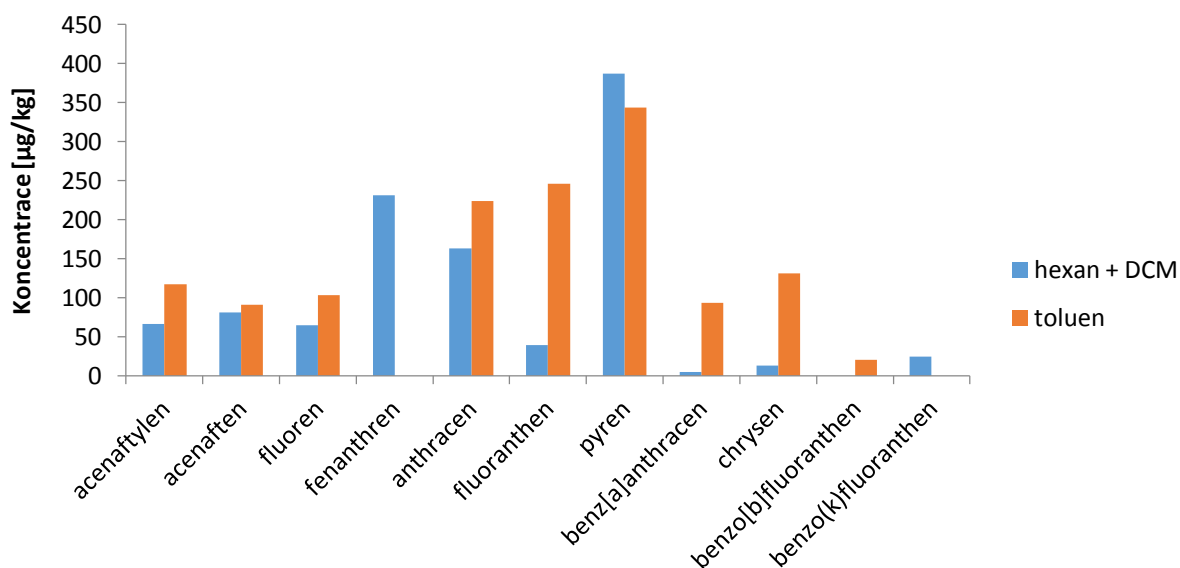
| [µg/kg] | hexan + DCM | toluen |
|---------|-------------|--------|
| PCB 28  | 11,21       | <10    |
| PCB 52  | <5          | <5     |
| PCB 101 | <50         | <50    |
| PCB 118 | <5          | <5     |
| PCB 138 | <10         | <5     |
| PCB 153 | <5          | <5     |
| PCB 180 | <5          | <5     |

Z výsledků plyne, že pro PCB je mírně vhodnějším extrakčním činidlem směs hexanu a dichlormethanu.

Většina látek, kromě kongeneru 28, byly obsaženy v množstvích menší než limit kvantifikace nebo detekce.

**Tabulka 47: Stanovené koncentrace PAU při využití různých extrakčních činidel**

| [µg/kg]               | hexan + DCM                   | toluen                        |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| acenaftýlen           | 66,44                         | 116,85                        |
| acenaften             | 81,11                         | 90,56                         |
| fluoren               | 64,39                         | 102,95                        |
| fenanthren            | 231,08                        | nad nejvyšším bodem kalibrace |
| anthracen             | 162,77                        | 223,63                        |
| fluoranthen           | 38,96                         | 245,86                        |
| pyren                 | 386,63                        | 343,53                        |
| benz[a]anthracen      | 4,31                          | 93,25                         |
| chrysen               | 12,81                         | 130,85                        |
| benzo[b]fluoranthen   | <10                           | 20,35                         |
| benzo(k)fluoranthen   | 24,48                         | <10                           |
| benzo[a]pyren         | <25                           | <25                           |
| benzo[ghi]perylen     | <5                            | <5                            |
| naftalen              | nad nejvyšším bodem kalibrace | nad nejvyšším bodem kalibrace |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | <50                           | <50                           |
| dibenz[a,h]anthracen  | <50                           | <5                            |



*Obrázek 19: Porovnání stanovených koncentrací PAU při využití různých extrakčních rozpouštědel*

U většiny PAU bylo dosaženo vyšší úspěšnosti extrakce při využití toluenu, díky lepší rozpustnosti PAU než ve směsi hexanu a dichlormethanu. Zjištěné výsledky jsou v souladu s praxí, kdy je pro extrakci PAU běžně využíván toluen při Soxhletovi nebo PSE extrakci. Pro další extrakce vzorků byl zvolen toluen.

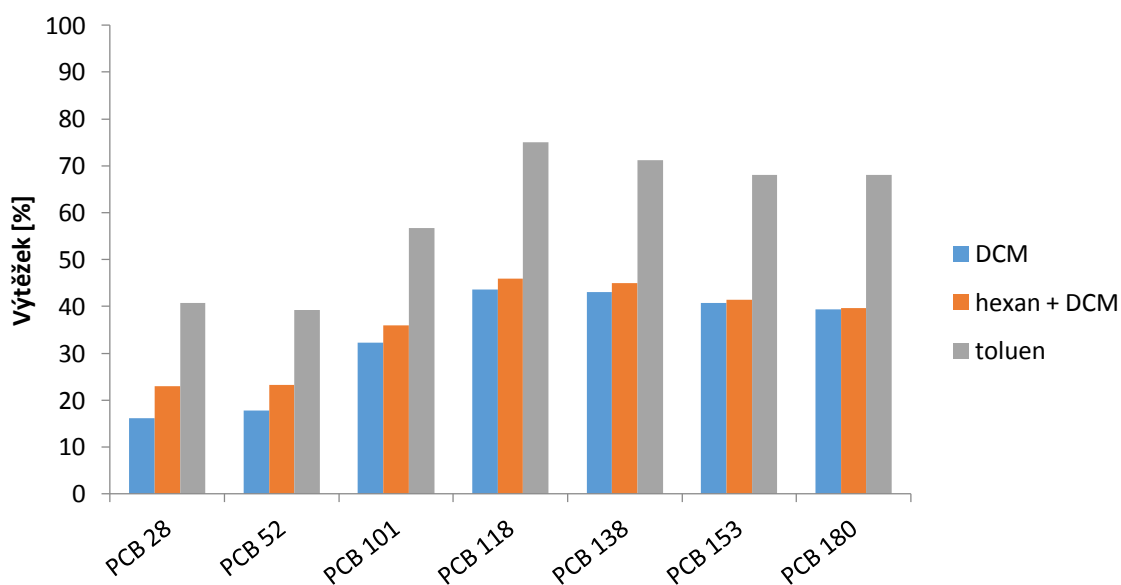
### 7.5.3.3 Výběr vhodného elučního činidla

Při čištění vzorků byly testovány následující eluční činidla: dichlormethan, směs hexanu a dichlormathenu (v poměru 1:1) a toluen. Na kolonách byly zkušebně čištěny připravené vzorky ze standardů PAU a PCB o koncentraci 500 ng/ml. Vzorky byly měřeny na přístroji

Bruker s kolonou SLB<sup>TM</sup>-5ms při metodě SIM. Stanovené koncentrace byly následně přepočteny na procentuální výtěžky původního množství.

**Tabulka 48: Procentuální výtěžky PCB při sloupcové chromatografii s využitím různých elučních činidel**

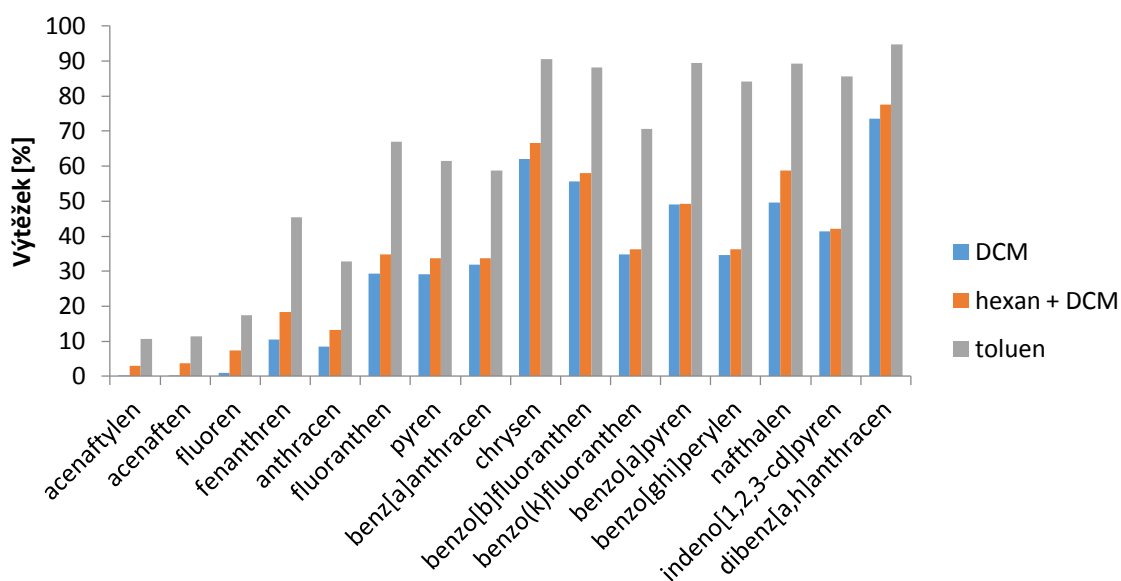
| [%]     | DCM   | hexan + DCM | toluen |
|---------|-------|-------------|--------|
| PCB 28  | 16,13 | 23,00       | 40,78  |
| PCB 52  | 17,73 | 23,24       | 39,20  |
| PCB 101 | 32,27 | 35,94       | 56,73  |
| PCB 118 | 43,60 | 45,96       | 75,09  |
| PCB 138 | 43,03 | 44,93       | 71,27  |
| PCB 153 | 40,79 | 41,48       | 68,11  |
| PCB 180 | 39,35 | 39,63       | 68,02  |



Obrázek 20: Procentuální výtěžky jednotlivých kongenerů PCB při sloupcové chromatografii

**Tabulka 49: Procentuální výtěžky PAU při sloupcové chromatografii s využitím různých elučnicích činidel**

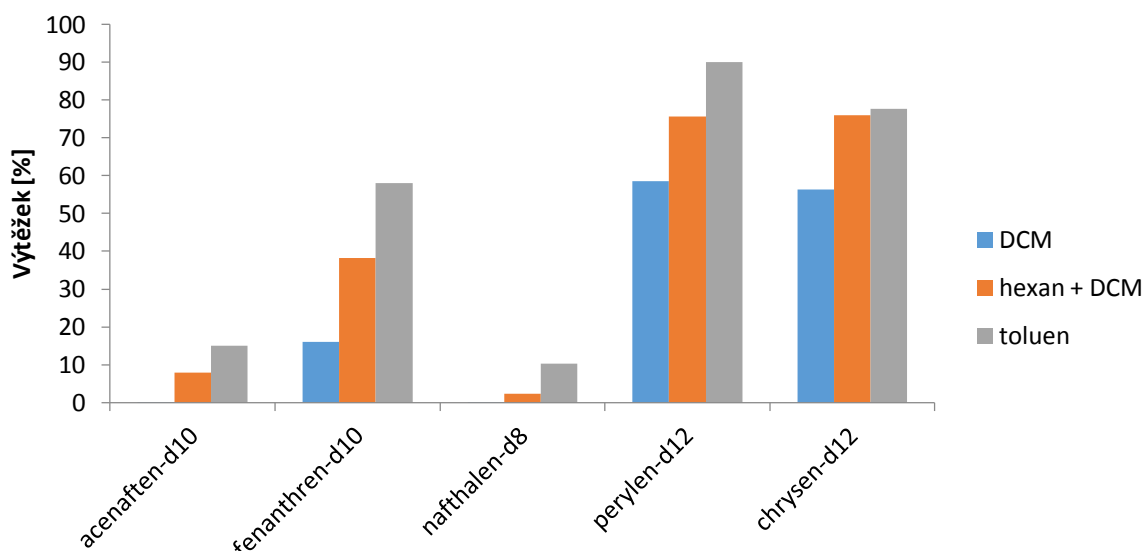
| [%]                   | DCM   | hexan + DCM | toluen |
|-----------------------|-------|-------------|--------|
| acenaftýlen           | 0,05  | 3,07        | 10,75  |
| acenaften             | 0,06  | 3,71        | 11,44  |
| fluoren               | 0,96  | 7,32        | 17,50  |
| fenanthren            | 10,46 | 18,30       | 45,41  |
| anthracen             | 8,51  | 13,21       | 32,84  |
| fluoranthren          | 29,33 | 34,85       | 66,91  |
| pyren                 | 29,04 | 33,68       | 61,49  |
| benz[a]anthracen      | 31,81 | 33,77       | 58,68  |
| chrysen               | 62,10 | 66,57       | 90,56  |
| benzo[b]fluoranthren  | 55,66 | 57,96       | 88,12  |
| benzo(k)fluoranthren  | 34,73 | 36,23       | 70,56  |
| benzo[a]pyren         | 48,96 | 49,15       | 89,37  |
| benzo[ghi]perylen     | 34,68 | 36,16       | 84,21  |
| naphthalen            | 49,65 | 58,65       | 89,27  |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 41,32 | 42,09       | 85,65  |
| dibenz[a,h]anthracen  | 73,57 | 77,57       | 94,66  |



*Obrázek 21: Procentuální výtěžky PAU při sloupcové chromatografii*

**Tabulka 50: Procentuální výtěžky vnitřních standardů při sloupcové chromatografii s využitím různých elučnicích činidel**

| [%]            | DCM   | hexan + DCM | toluen |
|----------------|-------|-------------|--------|
| acenaften-d10  | 0,08  | 7,93        | 15,09  |
| fenanthren-d10 | 15,99 | 38,19       | 58,09  |
| naphthalen-d8  | 0,01  | 2,37        | 10,30  |
| perylen-d12    | 58,47 | 75,66       | 89,99  |
| chrysen-d12    | 56,30 | 75,98       | 77,66  |



Obrázek 22: Procentuální výtěžky vnitřních standardů při sloupcové chromatografii

Nejvyšších procentuálních výtěžků pro PAU, PCB i deuterované PAU bylo dosaženo při využití toluenu. Nejmenších výtěžků bylo dosaženo při využití dichlormethanu (u některých látek <1 %). Je to způsobeno tím, že toluen má vyšší eluční sílu pro stanovované skupiny látek.

U PCB se výtěžky pohybovaly v rozmezí 40-75 %. Nejnižší výtěžek byl zjištěn u kongeneru číslo 52, nejvyšší u kongeneru 118.

U PAU bylo rozmezí procentuálních výtěžků větší, a to 11-95 %. Nejnižší výtěžek byl sledován u acenaftylenu, nejvyšší u dibenz[a,h]anthracenu.

U vnitřních standardů byly výtěžky v rozmezí 10-90 %. Nejnižších výtěžků dosahoval naphthalen-d8, který má vysokou těkavost. Nejvyšší výtěžky byly pozorovány u perylenu-d12.

#### 7.5.3.4 Vliv čištění na výsledky analýzy

Vliv čištění vzorků sloupcovou chromatografií byl zkoušen na vzorku číslo 214 193 s frakcí 1-2 mm. Jako extrakční činidlo byl použit toluen. Výběr byl proveden na základě největší čistoty získaných extraktů.

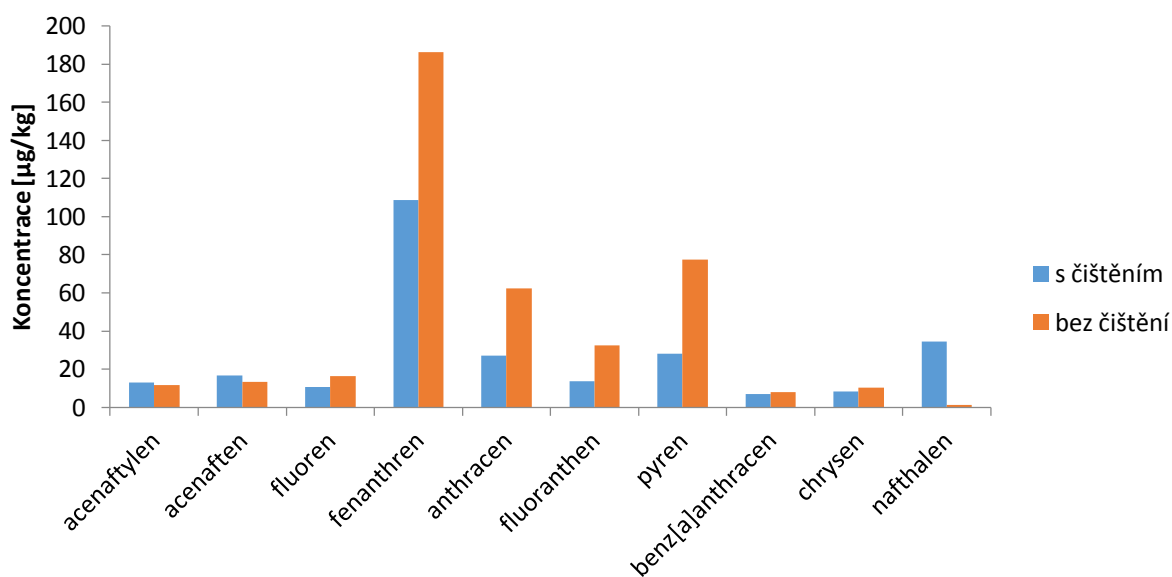
Extrakty byly měřeny na přístroji Bruker s kolonou SLB<sup>TM</sup>-5ms při metodě SIM.

**Tabulka 51: Stanovené koncentrace PCB při čištění a bez čištění vzorku**

| [µg/kg] | s čištěním | bez čištění |
|---------|------------|-------------|
| PCB 28  | <5         | <5          |
| PCB 52  | <5         | 36,74       |
| PCB 101 | <5         | <5          |
| PCB 118 | <5         | <5          |
| PCB 138 | <5         | <10         |
| PCB 153 | <5         | <5          |
| PCB 180 | <5         | <5          |

**Tabulka 52: Stanovené koncentrace PAU při čištění a bez čištění vzorku**

| [µg/kg]               | s čištěním | bez čištění |
|-----------------------|------------|-------------|
| acenaftylen           | 12,95      | 11,80       |
| acenaften             | 16,57      | 13,37       |
| fluoren               | 10,67      | 16,35       |
| fenanthren            | 108,73     | 186,34      |
| anthracen             | 27,21      | 62,32       |
| fluoranthren          | 13,55      | 32,53       |
| pyren                 | 28,14      | 77,36       |
| benz[a]anthracen      | 6,80       | 7,82        |
| chrysen               | 8,40       | 10,17       |
| benzo[b]fluoranthren  | <5         | <5          |
| benzo(k)fluoranthren  | <5         | <5          |
| benzo[a]pyren         | <25        | <25         |
| benzo[ghi]perylene    | <5         | <5          |
| naftalen              | 34,49      | 1,16        |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | <5         | <5          |
| dibenz[a,h]anthracen  | <5         | <5          |

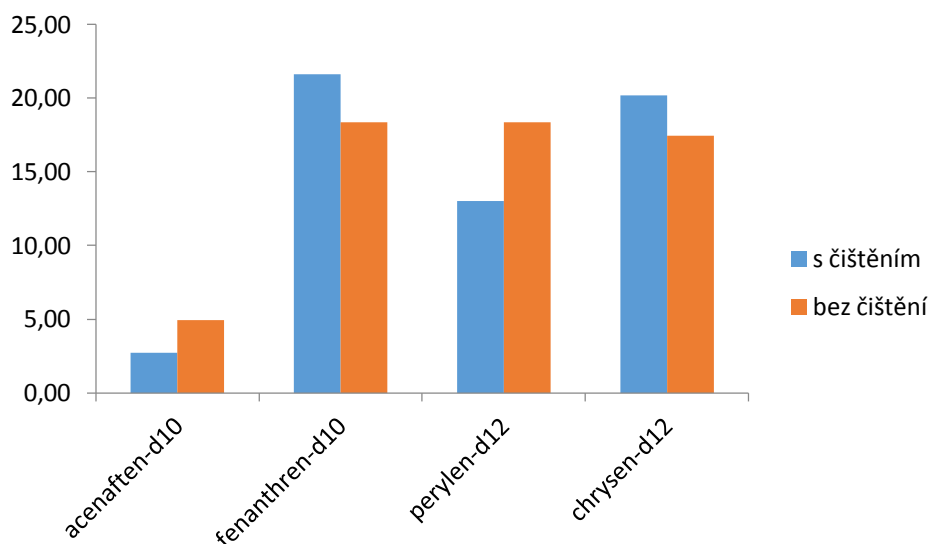


*Obrázek 23: Vliv čištění vzorku na stanovené koncentrace PAU*

**Tabulka 53: Stanovené koncentrace vnitřních standardů při čištění a bez čištění vzorku**

| [µg/kg]        | s čištěním | bez čištění |
|----------------|------------|-------------|
| acenaften-d10  | 2,71       | 4,95        |
| fenanthren-d10 | 21,62      | 18,37       |
| naftalen-d8    | <LOQ       | <LOQ        |
| perylene-d12   | 13,02      | 18,38       |
| chrysen-d12    | 20,21      | 17,47       |





Obrázek 24: Vliv čištění vzorku na stanovené koncentrace vnitřních standardů

Stanovené koncentrace jsou nižší, v důsledku horší úspěšnosti extrakce větších částic. U většiny sledovaných látek docházelo během čištění ke ztrátám oproti koncentracím stanovených ve vzorku bez čištění.

V případech, kdy získaný extrakt není příliš znečištěn je vhodnější krok čištění vynechat.

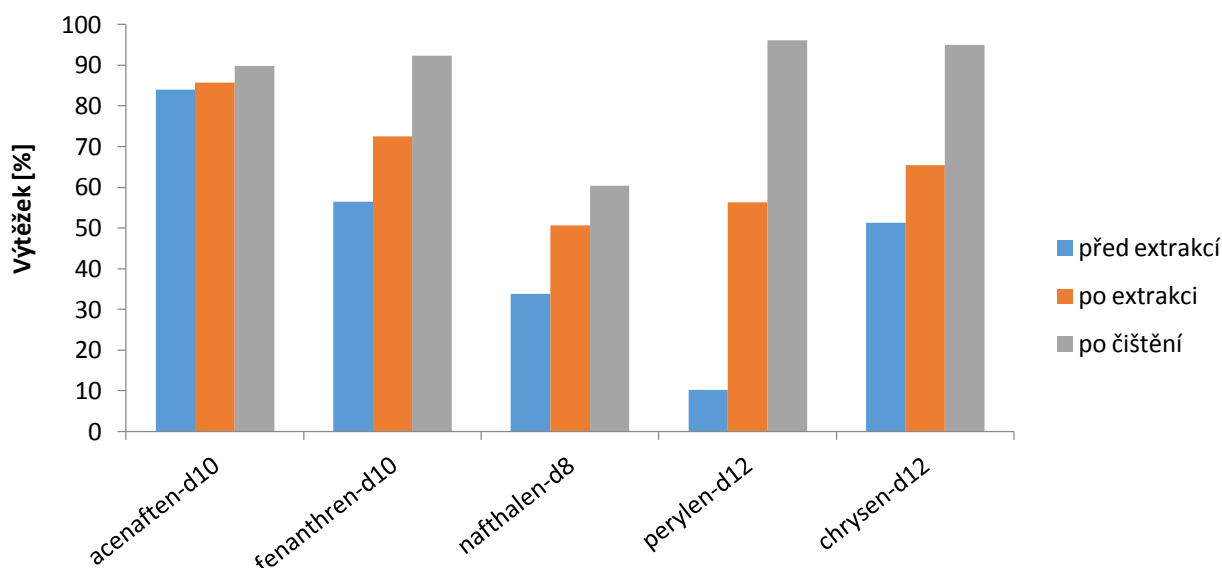
#### 7.5.3.5 Přídavky vnitřního standardu

Úbytky vnitřních standardů byly zkoušeny při extrakci vzorku číslo 214 193. Vnitřní standardy byly přidávány v různých fázích přípravy vzorku. Jako extrakční činidlo byl použit toluen. Všechny extrakty byly přečištěny sloupcovou chromatografií s využitím toluenu jako elučního činidla.

Analýza byla provedena na přístroji Bruker s kolonou SLB<sup>TM</sup>-5ms při metodě SIM.

**Tabulka 54: Procentuální výtěžky vnitřních standardů po přídavcích v různých fázích přípravy vzorku**

| [%]            | před extrakcí | po extrakci | po čištění |
|----------------|---------------|-------------|------------|
| acenaften-d10  | 83,93         | 85,69       | 89,89      |
| fenanthren-d10 | 56,53         | 72,56       | 92,34      |
| naftalen-d8    | 33,88         | 50,65       | 60,47      |
| perylen-d12    | 10,28         | 56,24       | 96,14      |
| chrysen-d12    | 51,26         | 65,38       | 94,98      |



Obrázek 25: Procentuální výtěžky vnitřních standardů

Nejvyšší výtěžky byly očekávány v případě přidavku vnitřního standardu po čištění extraktu, což potvrzují i zjištěné výsledky. Nejmenší výtěžky byly stanoveny u vzorku, ke kterému byl přidán vnitřní standard před extrakcí.

K největšímu úbytku došlo u perylenu-d12, a to 90 %. Nejmenší úbytky byly sledovány u acenaftenu-d10, u kterého byly jednotlivé výtěžky téměř vyrovnané.

Nejnižší stanovená koncentrace byla zjištěna u naftalenu-d8, který je ze sledovaných deuterovaných PAU nejvíce těžký.

#### 7.5.3.6 Porovnání metod GC/MSMS a GC/MS metoda SIM

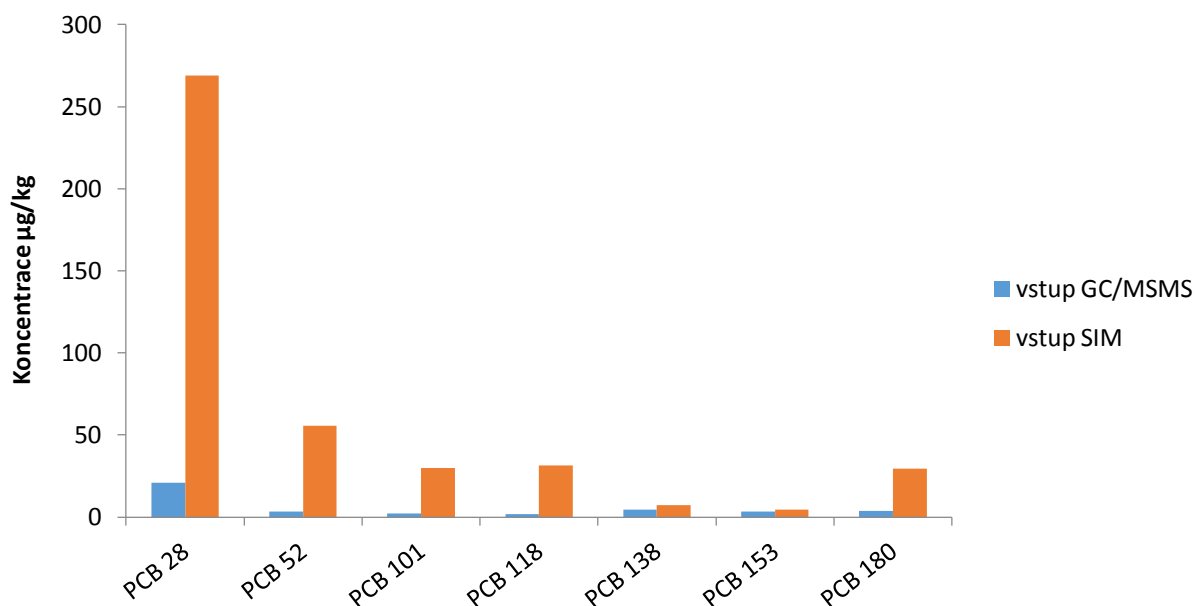
Pro porovnání vhodnosti metod GC/MSMS a GC/MS byl vybrán vzorek čistírenského kalu číslo 114 210 po extrakci toluenem. Vzorek byl vybrán díky nejvyššímu obsahu sledovaných látek.

Obě metody měření byly provedeny na přístroji Bruker s kolonou DB-EUPAH. Při GC/MSMS byla použita metoda MRM, při GC/MS byla využita metoda SIM.

Uvedené koncentrace jsou součtem stanovených koncentrací rozpuštěných látek v toluenu a isooktanu.

**Tabulka 55: Stanovené koncentrace PCB ve vstupním materiálu pomocí metod GC/MSMS a metody SIM**

| [µg/kg] | vstup (114 210)<br>GC/MSMS | vstup (114 210)<br>SIM |
|---------|----------------------------|------------------------|
| PCB 28  | 20,97                      | 268,98                 |
| PCB 52  | 3,24                       | 55,62                  |
| PCB 101 | 2,10                       | 30,03                  |
| PCB 118 | 1,81                       | 31,34                  |
| PCB 138 | 4,57                       | 7,22                   |
| PCB 153 | 3,57                       | 4,67                   |
| PCB 180 | 3,62                       | 29,38                  |

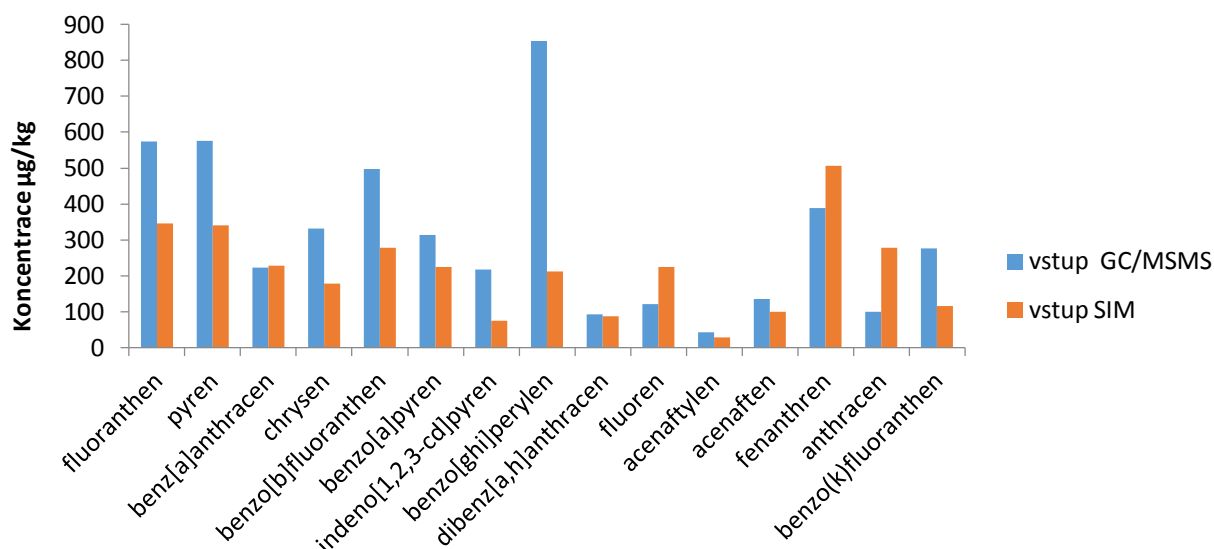


Obrázek 26: Porovnání stanovených koncentrací PCB ve vstupním materiálu pomocí metod GC/MSMS a metody SIM

Pro všechny kongenery PCB bylo dosaženo vyšších stanovených koncentrací při metodě SIM. To mohlo být způsobeno tím, že při metodě MSMS jsou měřeny pouze ionty PCB, kdežto při metodě SIM můžou být ve výsledku zahrnuty i jiné ionty. U metody GC/MSMS bylo ovšem dosaženo nižších limitů kvantifikace a detekce.

**Tabulka 56: Stanovené koncentrace PAU ve vstupním materiálu pomocí metod GC/MSMS a metody SIM**

| [µg/kg]               | vstup (114 210)<br>GC/MSMS    | vstup (114 210)<br>SIM        |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| fluoranthen           | 574,55                        | 345,33                        |
| pyren                 | 575,59                        | 340,10                        |
| benz[a]anthracen      | 223,55                        | 228,05                        |
| chrysen               | 332,07                        | 177,69                        |
| benzo[b]fluoranthen   | 497,18                        | 278,72                        |
| benzo[a]pyren         | 312,91                        | 224,75                        |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 217,15                        | 75,22                         |
| benzo[ghi]perylen     | 854,77                        | 212,81                        |
| dibenz[a,h]anthracen  | 91,79                         | 87,98                         |
| fluoren               | 121,87                        | 224,93                        |
| naftalen              | nad nejvyšším bodem kalibrace | nad nejvyšším bodem kalibrace |
| acenaftylen           | 42,72                         | 28,60                         |
| acenaften             | 135,68                        | 99,35                         |
| fenanthren            | 388,47                        | 505,59                        |
| anthracen             | 100,17                        | 277,41                        |
| benzo(k)fluoranthen   | 276,99                        | 115,01                        |



Obrázek 27: Porovnání stanovených koncentrací PAU ve vstupním materiálu pomocí metod GC/MSMS a metody SIM

Stejně jako u PCB byly sledovány nižší limity detekce a kvantifikace u metody GC/MSMS. U některých ze sledovaných PAU byla vyšší koncentrace stanovena u GC/MSMS než u metody SIM. To mohlo být způsobeno větší četností přechodů sledovaných iontů.

#### 7.5.3.7 Porovnání vstupního a výstupního materiálu

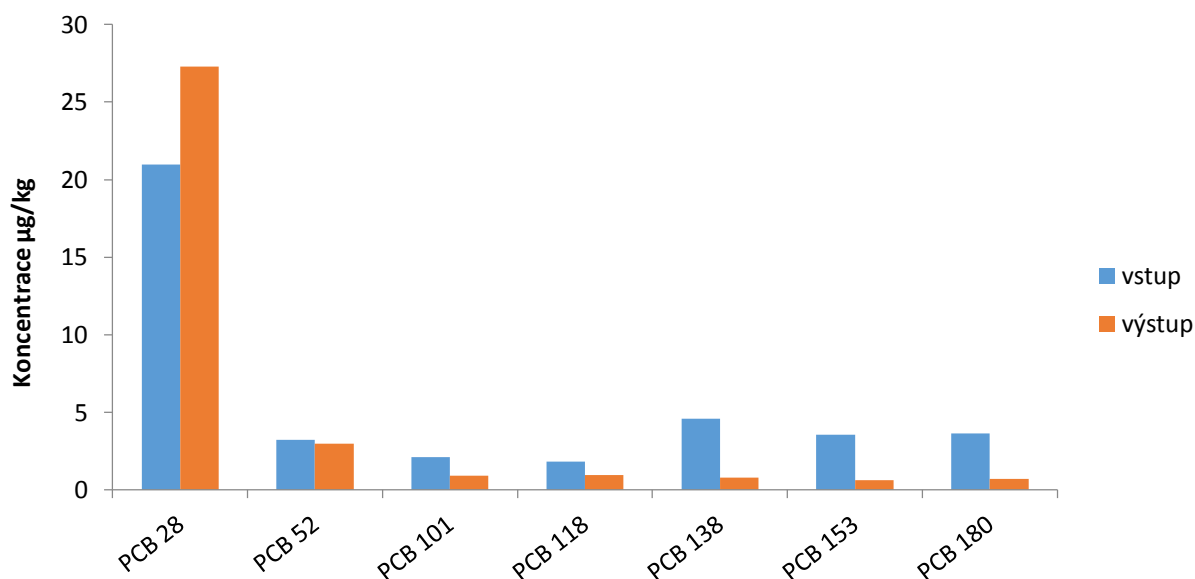
Pro porovnání koncentrací organických látek ve vstupním a výstupním materiálu byly využity vzorky číslo 114 210 a 214 210. Jedná se o čistírenský kal a biouhel, který byl vyroben jeho zpracováním mikrovlnnou torefakcí. Jako extrakční činidlo byl použit toluen.

Pro porovnání byly využity vzorky měřeny metodou GC/MSMS na koloně DB-EUPAH v přístroji Bruker.

V tabulkách jsou uvedeny součty koncentrací látek obsažených v toluenu a isooktanu.

Tabulka 57: Stanovené koncentrace PCB ve vstupním a výstupním materiálu

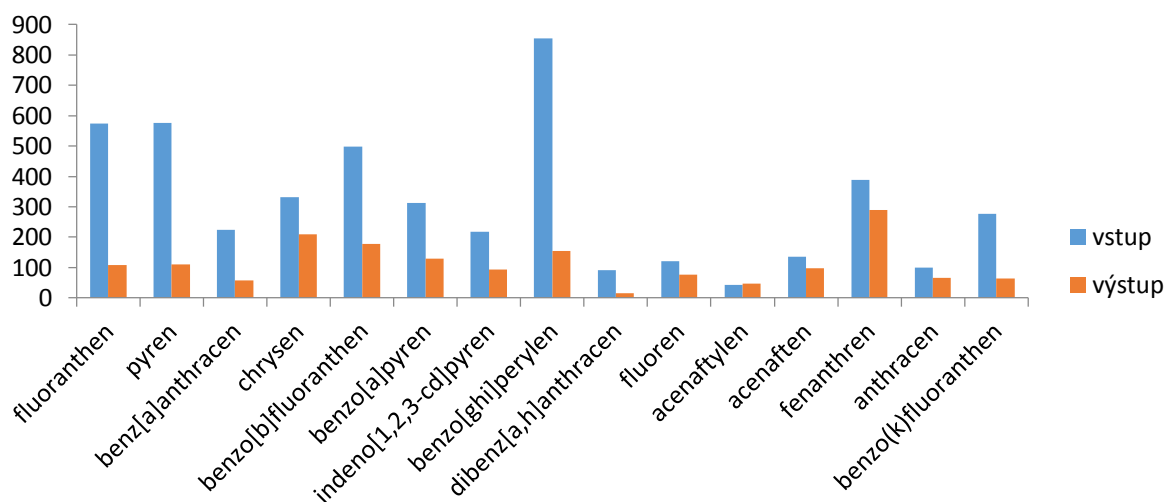
| [µg/kg] | vstup (114 210) | výstup (214 210) |
|---------|-----------------|------------------|
| PCB 28  | 20,97           | 27,27            |
| PCB 52  | 3,24            | 2,99             |
| PCB 101 | 2,10            | 0,91             |
| PCB 118 | 1,81            | 0,95             |
| PCB 138 | 4,57            | 0,78             |
| PCB 153 | 3,57            | 0,61             |
| PCB 180 | 3,62            | 0,71             |



Obrázek 28: Porovnání stanovených koncentrací PCB ve vstupním a výstupním materiálu

Tabulka 58: Stanovené koncentrace PAU ve vstupním a výstupním materiálu

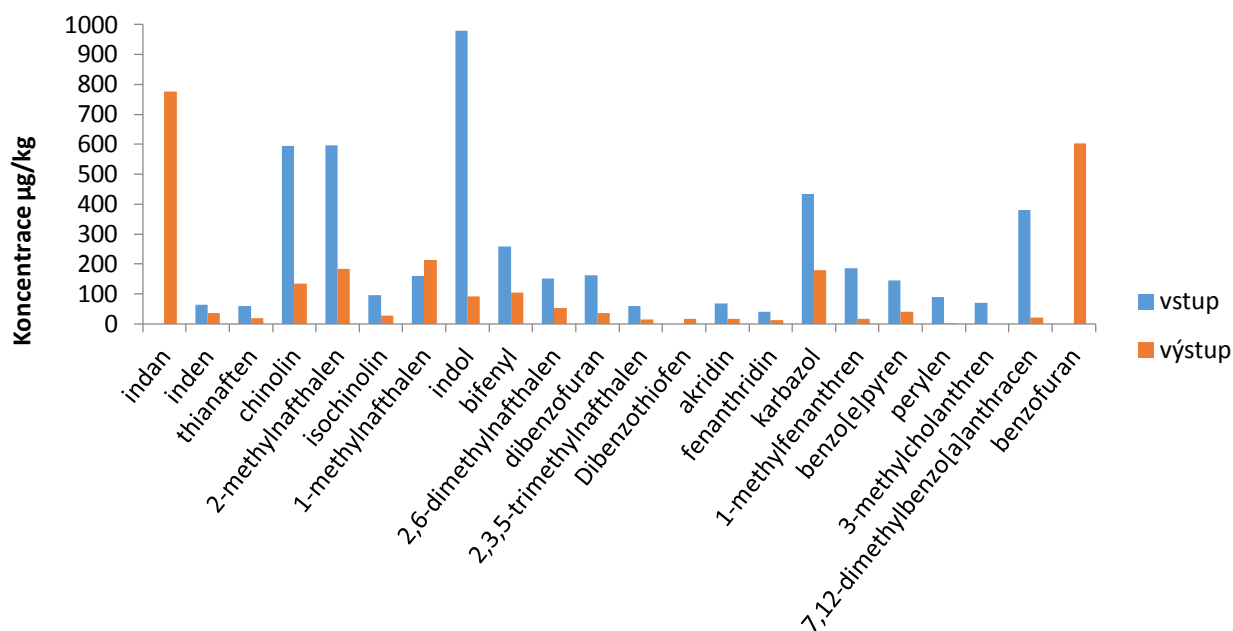
| [µg/kg]               | vstup (114 210)               | výstup (214 210)              |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| fluoranthen           | 574,54                        | 107,56                        |
| pyren                 | 575,59                        | 109,72                        |
| benz[a]anthracen      | 223,55                        | 57,22                         |
| chrysen               | 332,07                        | 208,38                        |
| benzo[b]fluoranthen   | 497,18                        | 177,97                        |
| benzo[a]pyren         | 312,91                        | 128,82                        |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 217,14                        | 93,49                         |
| benzo[ghi]perylen     | 854,77                        | 154,77                        |
| dibenz[a,h]anthracen  | 91,79                         | 15,16                         |
| fluoren               | 121,87                        | 76,28                         |
| naftalen              | nad nejvyšším bodem kalibrace | nad nejvyšším bodem kalibrace |
| acenaftylen           | 42,72                         | 47,62                         |
| acenaften             | 135,68                        | 97,68                         |
| fenanthren            | 388,47                        | 290,26                        |
| anthracen             | 100,17                        | 66,23                         |
| benzo(k)fluoranthen   | 276,99                        | 63,20                         |



Obrázek 29: Porovnání stanovených koncentrací PAU ve vstupním a výstupním materiálu

Tabulka 59: Stanovené koncentrace ostatních stanovovaných látek ve vstupním a výstupním materiálu

| [µg/kg]                        | vstup (114 210)               | výstup (214 210) |
|--------------------------------|-------------------------------|------------------|
| indan                          | nad nejvyšším bodem kalibrace | 776,17           |
| inden                          | 64,34                         | 36,85            |
| thianaften                     | 59,07                         | 18,65            |
| chinolin                       | 593,62                        | 133,77           |
| 2-methylnaftalen               | 596,03                        | 182,98           |
| isochinolin                    | 96,74                         | 28,32            |
| 1-methylnaftalen               | 160,23                        | 213,64           |
| indol                          | 978,64                        | 91,67            |
| bifenyl                        | 258,44                        | 103,81           |
| 2,6-dimethylnaftalen           | 151,23                        | 53,83            |
| dibenzofuran                   | 162,45                        | 36,06            |
| 2,3,5-trimethylnaftalen        | 60,61                         | 15,57            |
| dibenzothiofen                 | nad nejvyšším bodem kalibrace | 16,62            |
| akridin                        | 69,08                         | 16,36            |
| fenanthridin                   | 40,00                         | 13,28            |
| karbazol                       | 432,96                        | 180,06           |
| 1-methylfenanthren             | 186,10                        | 17,22            |
| benzo[e]pyren                  | 144,81                        | 40,08            |
| perylene                       | 90,68                         | 1,59             |
| 3-methylcholanthren            | 70,27                         | <1               |
| 7,12-dimethylbenzo[a]anthracen | 380,02                        | 22,24            |
| benzofuran                     | nad nejvyšším bodem kalibrace | 602,22           |



Obrázek 30: Porovnání stanovených koncentrací ve vstupním a výstupním materiálu

Téměř u všech sledovaných analytů byl sledován úbytek v biouhlu oproti vstupnímu materiálu. Je to způsobeno tím, že většina sledovaných látek je těkavá a během procesu torefakce přechází v plynném skupenství do biooleje a syngasu. Při procesu ochlazování může však docházet k částečnému kondenzování organických látek v pórech vyrobeného biouhlu.

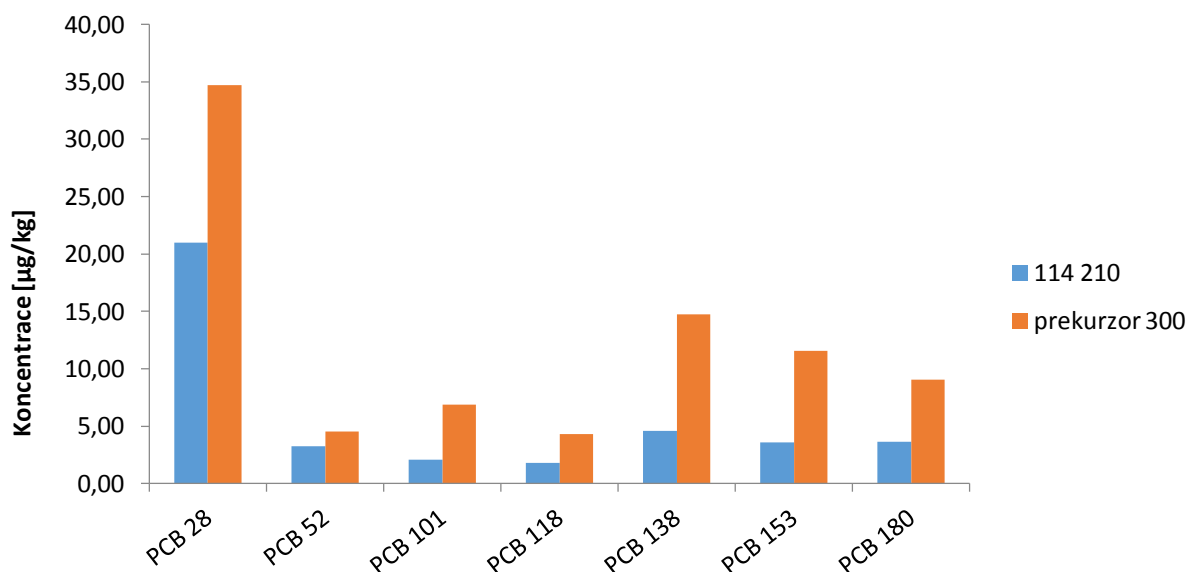
#### 7.5.3.8 Porovnání vstupních materiálů

Porovnávány byly 2 různé čistírenské kaly. Ke vzorku číslo 114 210 byl přidán organický modifikátor. Prekurzor 300 byl bez přidavku organického modifikátoru. Oba vzorky byly extrahovány toluenem.

Analyzovány byly pomocí metody GC/MSMS na koloně DB-EUPAH a na přístroji Bruker.

Tabulka 60: Stanovené koncentrace PCB v různých vstupních materiálech

|         | vzorek č. 114 210 | prekurzor 300 |
|---------|-------------------|---------------|
| PCB 28  | 20,97             | 34,72         |
| PCB 52  | 3,24              | 4,54          |
| PCB 101 | 2,10              | 6,89          |
| PCB 118 | 1,81              | 4,32          |
| PCB 138 | 4,57              | 14,76         |
| PCB 153 | 3,57              | 11,55         |
| PCB 180 | 3,62              | 9,07          |

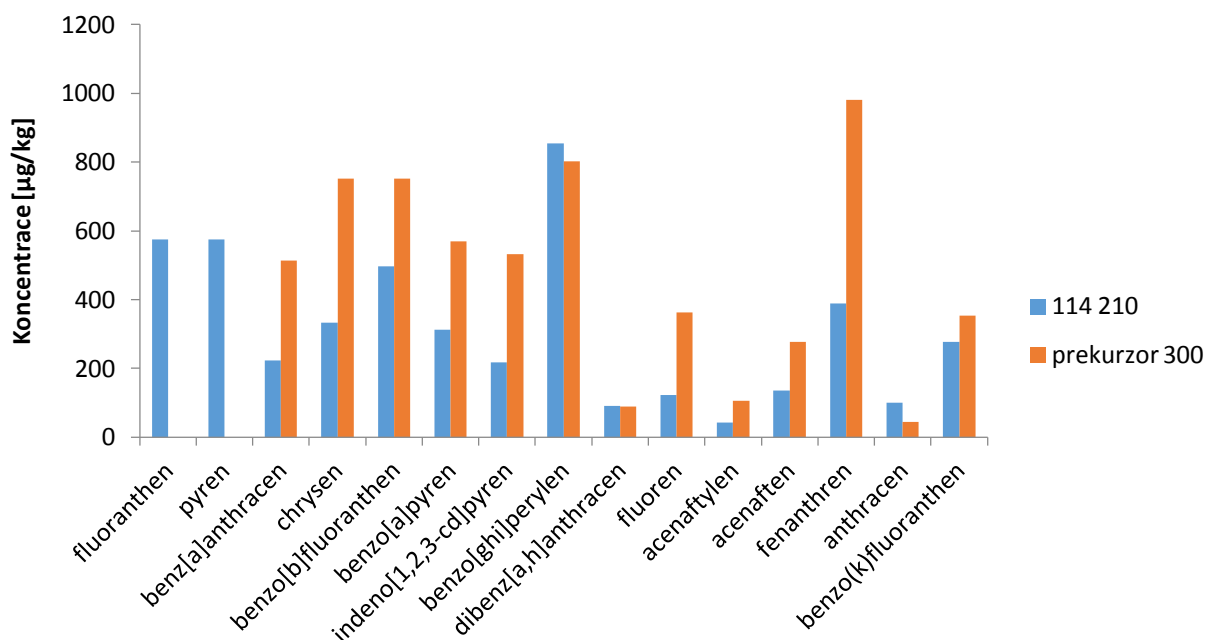


Obrázek 31: Porovnání stanovených koncentrací PCB v různých vstupních materiálech

Tabulka 61: Stanovené koncentrace PAU v různých vstupních materiálech

|                       | <b>vzorek č. 114 210</b>      | <b>prekurzor 300</b>          |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| fluoranthen           | 574,54                        | nad nejvyšším bodem kalibrace |
| pyren                 | 575,59                        | nad nejvyšším bodem kalibrace |
| benz[a]anthracen      | 223,55                        | 514,35                        |
| chrysen               | 332,07                        | 751,48                        |
| benzo[b]fluoranthen   | 497,18                        | 751,96                        |
| benzo[a]pyren         | 312,91                        | 568,52                        |
| indeno[1,2,3-cd]pyren | 217,14                        | 532,02                        |
| benzo[ghi]perylen     | 854,77                        | 801,28                        |
| dibenz[a,h]anthracen  | 91,79                         | 88,62                         |
| fluoren               | 121,87                        | 362,11                        |
| naftalen              | nad nejvyšším bodem kalibrace | nad nejvyšším bodem kalibrace |
| acenaftalen           | 42,72                         | 106,46                        |
| acenaften             | 135,68                        | 277,70                        |
| fenanthren            | 388,47                        | 980,30                        |
| anthracen             | 100,17                        | 45,22                         |
| benzo(k)fluoranthen   | 276,99                        | 353,28                        |





Obrázek 32: Porovnání stanovených koncentrací PAU v různých vstupních materiálech

Vyšší obsah téměř všech sledovaných organických látek byl stanoven u vzorku Prekursor 300.

### 7.5.3.9 Porovnání plynových chromatografů a hmotnostních spektrometrů

Dalším porovnáním metod je porovnání 2 přístrojů, a to přístroje Pegasus (metoda skenování – kolona Rxi<sup>TM</sup>-5ms) a Bruker (metoda SIM – kolona DB-EUPAH).

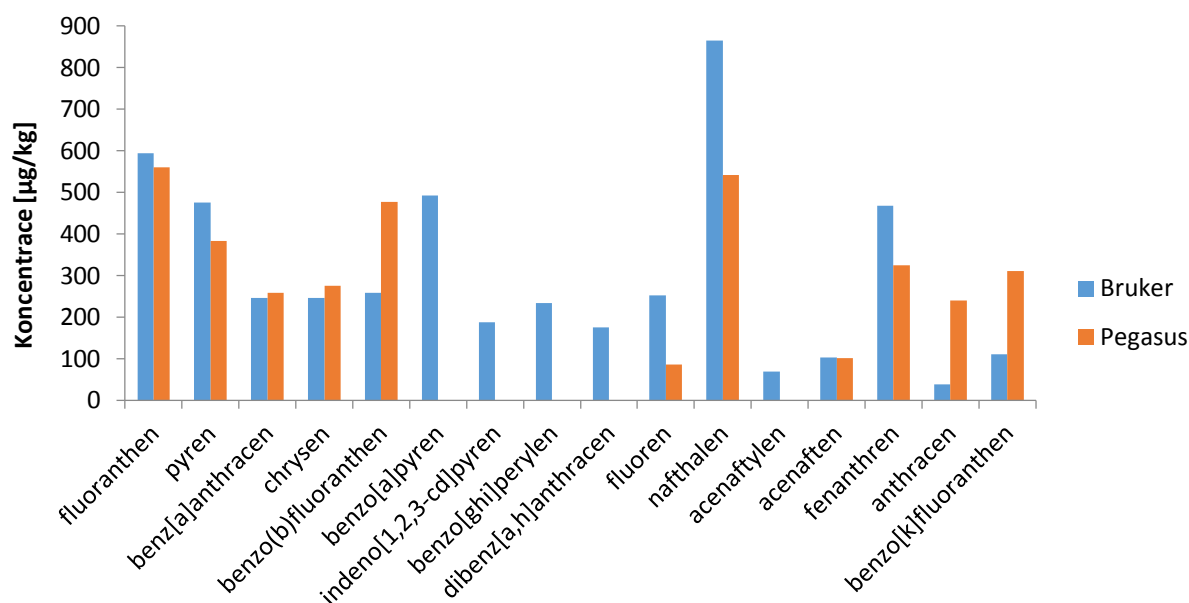
Pro srovnání přístrojů byl vybrán vzorek Prekursor 300, který byl extrahován toluenem.

**Tabulka 62: Stanovené koncentrace PCB pomocí různých hmotnostních spektrometrů ve vzorku Prekursor 300**

| [µg/kg] | <b>Bruker</b> | <b>Pegasus</b> |
|---------|---------------|----------------|
| PCB 28  | 17,38         | <10            |
| PCB 52  | 39,43         | <10            |
| PCB 101 | 14,52         | <10            |
| PCB 118 | 16,73         | <50            |
| PCB 138 | 4,36          | <10            |
| PCB 153 | 3,10          | <50            |
| PCB 180 | 17,29         | <50            |

**Tabulka 63: Stanovené koncentrace PAU pomocí různých hmotnostních spektrometrů ve vzorku Prekursor 300**

| [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] | <b>Bruker</b> | <b>Pegasus</b> |
|-----------------------------|---------------|----------------|
| fluoranthen                 | 594,42        | 559,95         |
| pyren                       | 476,18        | 383,04         |
| benz[a]anthracen            | 246,83        | 257,69         |
| chrysen                     | 246,63        | 275,69         |
| benzo(b)fluoranthen         | 259,16        | 476,85         |
| benzo[a]pyren               | 492,23        | <100           |
| indeno[1,2,3-cd]pyren       | 186,94        | <500           |
| benzo[ghi]perylen           | 233,35        | <100           |
| dibenz[a,h]anthracen        | 175,51        | <250           |
| fluoren                     | 251,88        | 86,57          |
| naftalen                    | 864,36        | 541,44         |
| acenaftylen                 | 68,47         | <10            |
| acenaften                   | 102,15        | 101,30         |
| fenanthren                  | 467,31        | 324,25         |
| anthracen                   | 38,05         | 240,14         |
| benzo[k]fluoranthen         | 110,80        | 311,03         |



*Obrázek 33: Porovnání stanovených koncentrací PAU ve vzorku pomocí různých hmotnostních spektrometrů*

Při měření v režimu skenování byly zjištěny vyšší limity detekce a kvantifikace. Při měření na přístroji Pegasus byla část látek pod limitem kvantifikace, zatímco při měření na přístroji Bruker byly všechny látky nad tímto limitem.

Co se týče obsahu sledovaných analytů, v některých případech byla vyšší koncentrace stanovena pomocí Brukeru a někdy pomocí Pegase.

### 7.5.3.10 Sumy stanovených PCB a PAU

**Tabulka 64: Sumy sledovaných kongenerů PCB stanovených pomocí různých metod a v různých materiálech**

| [µg/kg]                            | celkový součet | rozdíl mezi vstupním a výstupním materiálem |
|------------------------------------|----------------|---|
| vzorek č. 114 210 (metoda SIM)     | 427,23         | 382,20                                      |
| vzorek č. 214 210 (metoda SIM)     | 45,03          |   |
| vzorek č. 114 210 (metoda MSMS)    | 39,89          | 5,68  |
| vzorek č. 214 210 (metoda MSMS)    | 34,21          |   |
| vzorek Prekurzor 300 (metoda SIM)  | 186,30         |   |
| vzorek Prekurzor 300 (metoda MSMS) | 85,84          |   |

Limitní hodnota PCB pro základní i prémiový biouhel je 0,2 mg/kg. Nejvyšší suma stanovených PCB ve vzorku biouhlu byla stanovena pomocí metody SIM, a to 45,03 µg/kg (0,045 mg/kg). Nejvyšších součtů kongenerů PCB bylo dosaženo pomocí metody SIM.

**Tabulka 65: Sumy\* 16 sledovaných PAU (podle US EPA) stanovených pomocí různých metod a v různých materiálech**

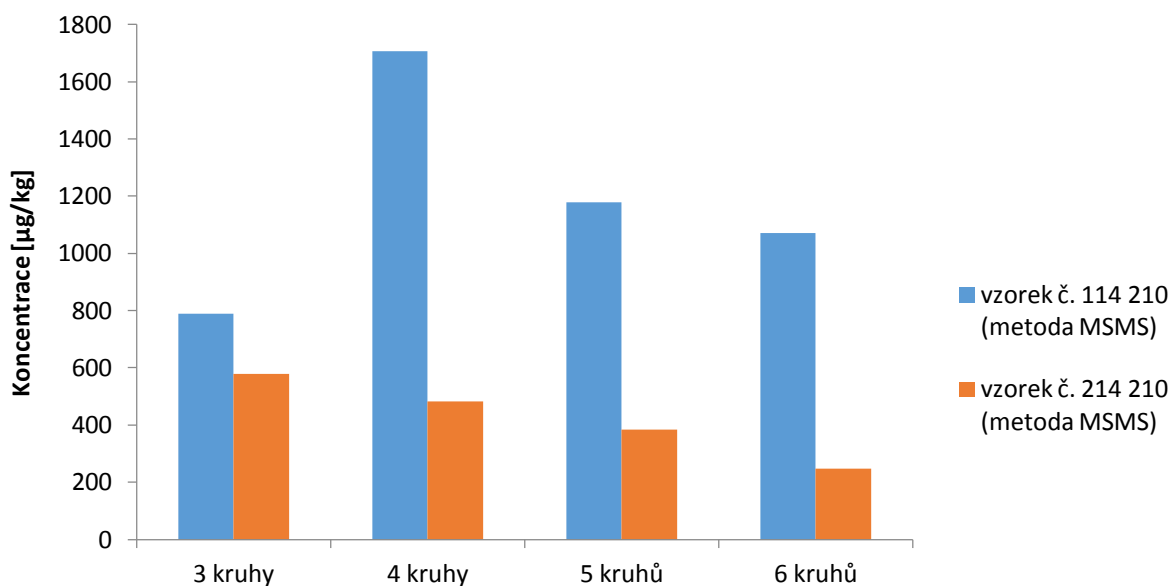
| [µg/kg]                            | celkový součet | rozdíl mezi vstupním a výstupním materiálem |
|------------------------------------|----------------|---|
| vzorek č. 114 210 (metoda SIM)     | 3221,52        | 2708,69                                     |
| vzorek č. 214 210 (metoda SIM)     | 512,83         |   |
| vzorek č. 114 210 (metoda MSMS)    | 4745,45        | 3051,07                                     |
| vzorek č. 214 210 (metoda MSMS)    | 1694,38        |   |
| vzorek Prekurzor 300 (metoda SIM)  | 4814,27        |   |
| vzorek Prekurzor 300 (metoda MSMS) | 6133,30        |   |

\*V sumách nejsou zahrnuty koncentrace látek, které byly obsaženy nad nejvyšším bodem kalibrace

Limitní hodnota součtu 16 PAU je pro prémiový biouhel 4 mg/kg a pro základní biouhel 12 mg/kg. Nejvyšší hodnoty součtu sledovaných PAU bylo dosaženo při metodě GC/MSMS, a to 1694,38 µg/kg (1,69 mg/kg). Tato hodnota splňuje kritéria pro prémiový biouhel (hodnota bez látek nad rozsahem kalibrace, tudíž reálná hodnota je vyšší).

**Tabulka 66: Sumy stanovených PAU rozdělených podle počtu kruhů jednotlivých PAU**

| [µg/kg]                                     | 2 kruhy                       | 3 kruhy | 4 kruhy | 5 kruhů | 6 kruhů |
|---|-------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| vzorek č. 114 210 (metoda MSMS)             | nad nejvyšším bodem kalibrace | 788,90  | 1705,76 | 1178,87 | 1071,92 |
| vzorek č. 214 210 (metoda MSMS)             | nad nejvyšším bodem kalibrace | 578,08  | 482,89  | 385,16  | 248,26  |
| rozdíl mezi vstupním a výstupním materiálem | -                             | 210,82  | 1222,87 | 793,71  | 823,66  |



Obrázek 34: Rozdělení sledovaných PAU podle počtu kruhů

Největší zastoupení ve vstupním i výstupním materiálu má naftalen (2 kruhy), který byl nad rozsahem kalibrace. Z kvantifikovaných skupin to je skupina PAU se 4 kruhy (fluoranthen, pyren, chrysen, benz[a]anthracen).

K největšímu úbytku během pyrolýzy došlo u skupiny PAU se 4 kruhy (o 72 % z původního množství), naopak nejmenšímu úbytek byl u skupiny se 3 kruhy (o 27 % z původního množství).

#### 7.5.3.11 Identifikace dalších látek přítomných v extraktech

Na přístroji Bruker byly změřeny vzorky i pomocí skenu v rozsahu 30-400  $m/z$ . Vzorky byly měřeny s nástřikem split i splitless. Při nástřiku splitless (i při metodách SIM a MSMS) byly píky na začátku chromatogramu nízké a velmi široké, proto bylo obtížné je kvantifikovat. Jedná se o látky benzofuran, indan a inden. Tvar počátečních píků byl způsoben průměrem kolony. Píky by šly vylepšit při měření na koloně s menším průměrem. Při nástřiku split byly počáteční píky lepší.

Po identifikaci píků byly zjištěny kromě sledovaných analytů i další organické látky, např. vanilin, různé organické kyseliny (oktanová kyselina, tetradekanová kyselina, pentadekanová kyselina aj.), cholestan aj. Tyto látky byly obsaženy ve vstupním i výstupním materiálu.

## 8 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo optimalizovat vhodnou metodu pro stanovení organických látek v pevném uhlíkatém zbytku (biouhlu) a následná analýza reálných vzorků. Vzhledem k tomu, že v letošním roce nebyly dodány vzorky pro stanovení organických látek, byla experimentální část zaměřena spíše na optimalizaci metody.

Při optimalizaci metody byla volena nejvhodnější velikost částic extrahovaného materiálu, kdy lépe vyšel jemný prášek, proto byla tato forma vzorku využita při dalších extrakcích. Dále bylo voleno nejvhodnější extrakční činidlo pro PSE extrakci. Nejvyšších stanovených koncentrací bylo dosaženo při použití toluenu.

Dále bylo zjištěno, že v případě, kdy není extrakt příliš znečištěn, je vhodnější vynechat krok čištění, při kterém dochází ke ztrátám organických látek. V případě nutnosti čištění vzorku sloupcovou chromatografií je nejvhodnějším elučním činidlem toluen.

Bylo vyzkoušeno několik metod stanovení organických látek v biouhlu, a to metoda skenování, metoda SIM a tandemová hmotnostní spektrometrie MSMS. Nejnižších limitů detekce a kvantifikace bylo dosaženo při metodě MSMS kdy byly i při nízkých koncentracích pozorovány vysoké a úzké píky. Naopak nejvyšší limity detekce a kvantifikace byly zjištěny při měření na přístroji Pegasus v režimu skenování.

Při srovnání vstupního a výstupního materiálu bylo dokázáno, že se množství organických polutantů během procesu mikrovlnné torefakce výrazně snížilo. Byla tak potvrzen poznatek, že většina organických látek během procesu přechází do biooleje nebo syngasu.

Z hlediska sumy sledovaných PAU a PCB v legislativě, by se teoreticky analyzovaný biouhel dal použít v zemědělství. Ovšem záleží i na spoustě jiných faktorů, např. obsahu těžkých kovů, které se nadají odstranit během torefakce, obsahu uhlíku, některých fyzikálních vlastnostech aj..

## 9 LITERATURA

- [1] *Initiative, International Biochar*, [online]. International Biochar Initiative, 2016 [cit. 2020-03-14].
- [2] A Review of Biochar and Its Use and Function in Soil. *Advances in Agronomy*. **105**(1), 47-82.
- [3] OKIMORI, Yasuyuki, Makoto OGAWA a Fumio TAKAHASHI. Potential of CO<sub>2</sub> emission reductions by carbonizing biomass waste from industrial tree plantation in South Sumatra, Indonesia. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. 2003, **8**, 261-280.
- [4] DAY, Danny, Robert J. EVANS, James W. LEE a Don REICOSKY. Economical CO<sub>2</sub>, SO<sub>x</sub>, and NO<sub>x</sub> capture from fossil-fuel utilization with combined renewable hydrogen production and large-scale carbon sequestration. *Energy*. 2005, **30**(14), 2558-2579.
- [5] OGAWA, Makoto, Yasuyuki OKIMORI a Fumio TAKAHASHI. Carbon Sequestration by Carbonization of Biomass and Forestation: Three Case Studies. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. 2006, **11**, 429-444.
- [6] NARTEY, Obemah D. a Baowei ZHAO. Biochar Preparation, Characterization, and Adsorptive Capacity and Its Effect on Bioavailability of Contaminants: An Overview. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2014, **14**.
- [7] ZIELIŃSKA, Anna, Patryk OLESZCZUK, Barbara CHARMAS, Jadwiga SKUBISZEWSKA-ZIEBA a Sylwia PASIECZNA-PATKOWSKA. Effect of sewage sludge properties on the biochar characteristic. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2015, **112**, 201-213.
- [8] GASCÓ, G., C. G. BLANCO, F. GUERRERO a A. M. MÉNDEZ LÁZARO. The influence of organic matter on sewage sludge pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2005, **74**(1-2), 413-420.
- [9] Jocelyn biochar electron microscope images 1 Biochar Project| BiocharAustralia |. biochar project kunghur is a free biochar related website. [online]. Dostupné z: <http://biocharproject.org/charmasters-log/biochar-electron-microscope-images/attachment/jocelyn-biochar-electron-microscope-images-1-2/>
- [10] YU, Xiang-Yang, Guang-Guo YING a Rai S. KOOKANA. Sorption and Desorption Behaviors of Diuron in Soils Amended with Charcoal. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006, **22**(54), 8545-8550.
- [11] SHAO, Jianguang, Xingzhong YUAN, Lijian LENG, Huajun HUANG, Longbo JIANG, Hou WANG, Xiaohong CHEN a Guangming ZENG. The comparison of the migration and transformation behavior of heavy metals during pyrolysis and liquefaction of municipal sewage sludge, paper mill sludge, and slaughterhouse sludge. *Bioresource Technology*. 2015, **198**, 16-22.

- [12] FAHMI, R., Tony BRIDGWATER, Iain DONNISON a Nicola YATES. The Effect of Lignin and Inorganic Species in Biomass on Pyrolysis Oil Yields, Quality and Stability. *Fuel*. 2008, **87**(7), 1230-1240.
- [13] BRIDGWATER, A. V., D. MEIER a D. RADLEIN. An overview of fast pyrolysis of biomass. *Organic Geochemistry*. 1999, **30**(12), 1479-1493.
- [14] IOANNIDOU, O., Anastasia ZABANIOTOU, E. V. ANTONAKOU a K. M. PAPAZISI. Investigating the potential for energy, fuel, materials and chemicals production from corn residues (cobs and stalks) by non-catalytic and catalytic pyrolysis in two reactor configurations. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2009, **13**(4), 750-762.
- [15] LAIRD, David A., Robert C. BROWN, James E. AMONETTE a Johannes LEHMANN. Review of the pyrolysis platform for coproducing bio- oil and biochar. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2009, **3**(5), 547-562.
- [16] LYU, Honghong, Yuhe HE, Jingchun TANG, Markus HECKER, Qinglong LIU, Paul D. JONES, Garry CODLING a John P. GIESY. Effect of pyrolysis temperature on potential toxicity of biochar if applied to the environment. *Environmental Pollution*. 2016, 218, 1-7. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.08.014. ISSN 02697491. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749116306996>
- [17] BROWN, R. Biochar production technology. Joseph S. Lehmann J. Biochar for Environmental Management. Londýn: Earthscan, 2009.
- [18] NAMAALWA, Justine, Prem L. SANKHAYAN a Ole HOFSTAD. A dynamic bio-economic model for analyzing deforestation and degradation: An application to woodlands in Uganda. *Forest Policy and Economics*. 2007, **9**(5), 479-495.
- [19] VAN DER STELT, M. J. C., H. GERHAUSER, J. H. A. KIEL a Krzysztof PTASINSKI. Biomass Upgrading by Torrefaction for the Production of Biofuels: A Review. *Biomass and Bioenergy*. 2011, **35**(9), 3748-3762.
- [20] Biochar Technology [online]. [cit. 2020-03-27]. Dostupné z: <https://biochar-international.org/biochar-technology/>
- [21] EBC (2012) 'European Biochar Certificate – Guidelines for a Sustainable Production of Biochar.' European Biochar Foundation (EBC), Arbaz, Switzerland. <http://www.europeanbiochar.org/en/download>. Version 8.3E of 1st September 2019, DOI: 10.13140/RG.2.1.4658.7043
- [22] *Standardized Product Definition and Product Testing Guidelines for Biochar: That Is Used in Soil* [online]. International Biochar Initiative, 2015 [cit. 2020-03-27]. Dostupné z: [https://www.biochar-international.org/wp-content/uploads/2018/04/IBI\\_Biochar\\_Standards\\_V2.1\\_Final.pdf](https://www.biochar-international.org/wp-content/uploads/2018/04/IBI_Biochar_Standards_V2.1_Final.pdf)
- [23] LIANG, Biqing, Johannes LEHMANN, Dawit SOLOMON a James KINYANGI. Black Carbon Increases Cation Exchange Capacity in Soils. *Soil Science Society of America Journal*. 2006, (70), 1719-1730.

- [24] DELUCA, T. H., M. D. MACKENZIE a M. J. GUNDALE. Biochar effects on soil nutrient transformation. J. and Joseph, S. (Eds.), Lehmann. *Biochar for environmental management: science and technology*. London : Earthscan, 2009, 251-280.
- [25] ENNIS, Christopher J., A. Garry EVANS, Meez ISLAM, T. Komang RALEBITSO-SENIOR a Eric SENIOR. Biochar: Carbon Sequestration, Land Remediation, and Impacts on Soil Microbiology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2012, **22**, 2311-2364.
- [26] LADYGINA, Natalia a Francois RINEAU. *Biochar and Soil Biota*. Boca Raton: CRC Press, 2013. ISBN 978-1-4665-7651-3.
- [27] RHODES, Angela H., Alisdair CARLIN a Kirk T. SEMPLE. Impact of Black Carbon in the Extraction and Mineralization of Phenanthrene in Soil. *Environmental Science and Technology*. 2008, **42**(3), 740-745.
- [28] YU, X. Y., G. G. YING a R. S. KOOKANA. Reduced plant uptake of pesticides with biochar additions to soil. *Chemosphere*. 2009, **76**(5), 665-671.
- [29] NAG, Subir Kumar, Rai KOOKANA, Lester SMITH a Evelyn KRULL. Poor efficacy of herbicides in biochar-amended soils as affected by their chemistry and mode of action. *Chemosphere*. 2011, **84**(11), 1572-1577.
- [30] ASAI, Hidetoshi, Benjamin K. SAMSON, Haefele M. STEPHAN, et al. Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos: 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Research*. 2009, **111**(1-2), 81-84.
- [31] UZOMA, K. C., Mitsuhiro INOUE, Andry HENINSTOA a Haruyuki FUJIMAKI. Effect of Cow Manure Biochar on Maize Productivity under Sandy Soil Condition. *Soil Use and Management*. 2011, **27**(2), 205-212.
- [32] NOGUERA, Diana, Sébastien BAROT, Kam-Rigne LAOSSI a J. A. CARDOSO. Biochar but not earthworms enhances rice growth through increased protein turnover. *Soil Biology and Biochemistry*. 2012, (52), 13-20.
- [33] ELAD, Y., D. R. DAVID, Y. M. HAREL, M. BORENSHTEIN, H. B. KALIFA, A. SILBER a E. R. GRABER. Induction of systemic resistance in plants by biochar, a soil-applied carbon sequestering agent. *Phytopathology*. 2010, **100**(9), 913-921.
- [34] HOUBEN, David, Laurent EVRARD a Philippe SONNET. Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar. *Chemosphere*. 2013, **92**(11), 1450-1457.
- [35] SUBRAMANIAN, Bhargavi, Vasudevan NAMBOODIRI, Amid P. KHODADOUST a Dionysios D. DIONYSIOU. Extraction of pentachlorophenol from soils using environmentally benign lactic acid solutions. *Journal of Hazardous Materials*. 2010, **174**(1-3), 263-269.
- [36] LOU, Liping, Ling LUO, Guanghuan CHENG, et al. The sorption of pentachlorophenol by aged sediment supplemented with black carbon produced from rice straw and fly ash. *Bioresource Technology*. 2012, **112**, 61-66.



- [37] YAO, Y., B. GAO, H. CHEN, et al. Adsorption of sulfamethoxazole on biochar and its impact on reclaimed water irrigation. *Journal of Hazardous Materials*. 2012, **30**(209-210), 408-413.
- [38] OLESZCZUK, Patryk, Sarah E. HALE, Johannes LEHMANN a Gerard CORNELISSEN. Activated carbon and biochar amendments decrease pore-water concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sewage sludge. *Bioresource Technology*. 2012, **111**, 84-91.
- [39] AMELOOT, Nele, Stefaan DE NEVE, Kanagaratnam JEGAJEEVAGAN, et al. Short-term CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions and microbial properties of biochar amended sandy loam soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 2013, **57**, 401-410. DOI: 10.1016/j.soilbio.2012.10.025. ISSN 00380717. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003807171200404X>.
- [40] HUANG, Shengyan, Jianping BAO, Mingjuan SHAN, Hua QIN, Hailong WANG, Xuejun YU, Junhui CHEN a Qiufang XU. Dynamic changes of polychlorinated biphenyls (PCBs) degradation and adsorption to biochar as affected by soil organic carbon content. *Chemosphere*. 2018, **211**, 120-127. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.133.
- [41] DUTTA, Tanushree, Eilhann KWON, Satya Sundar BHATTACHARYA, Byong Hun JEON, Akash DEEP, Minori UCHIMIYA a Ki-Hyun KIM. Polycyclic aromatic hydrocarbons and volatile organic compounds in biochar and biochar- amended soil: a review. *Global change biology bioenergy*. 2017, **9**(6), 990-1004.
- [42] BUCHELI, Thomas D., Isabel HILBER a Hans-Peter SCHMIDT. Chapter 21: Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated aromatic compounds in biochar. *Biochar for Environmental Management: Science, Technology and Implementation* [online]. s. 30 [cit. 2020-03-27]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/profile/Hans-Peter\\_Schmidt/publication/280052910\\_Polycyclic\\_aromatic\\_hydrocarbons\\_and\\_polychlorinated\\_aromatic\\_compounds\\_in\\_biochar/links/573da4e008aea45ee842cf7a/Polycyclic-aromatic-hydrocarbons-and-polychlorinated-aromatic-compounds-in-biochar.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Hans-Peter_Schmidt/publication/280052910_Polycyclic_aromatic_hydrocarbons_and_polychlorinated_aromatic_compounds_in_biochar/links/573da4e008aea45ee842cf7a/Polycyclic-aromatic-hydrocarbons-and-polychlorinated-aromatic-compounds-in-biochar.pdf)
- [43] WALKER, Colin Harold. *Organic pollutants: An Ecotoxicological Perspective*. London: Taylor & Francis, 2001. ISBN 0-7484-0961-9.
- [44] Polychlorované bifenyly. irz.cenia.cz [online]. [cit. 2020-02-07]. Dostupné z: [https://www.irz.cz/repository/latky/polychlorovane\\_bifenyly.pdf](https://www.irz.cz/repository/latky/polychlorovane_bifenyly.pdf)
- [45] Polychlorované bifenyly (PCB) - Arnika. Hlavní stránka – Arnika [online]. Copyright © 2014 Arnika [cit. 2020-02-07]. Dostupné z: <https://arnika.org/polychlorovane-bifenyly-pcb>
- [46] DICKHUT, Rebecca M., Anders W. ANDREN a David E. ARMSTRONG. Aqueous solubilities of six polychlorinated biphenyl congeners at four temperatures. *Environmental Science & Technology*. 1986, **20**(8), 807-810.
- [47] OPPERHUIZEN, Antoon, Frank A. P. C. GOBAS, Jan M. D. VAN DER STEEN a Otto HUTZINGER. Aqueous solubility of polychlorinated biphenyls related to molecular structure. *Environmental Science & Technology*. 1988, **22**(6), 638-646.

- [48] UNEP Chemicals (1999): Guidelines for the Identification of PCBs and Materials Containing PCBs. United Nations Environment Programme, Ženeva, Švýcarsko, vydání 1.
- [49] HOLOUBEK, I., V. ADAMEC, BARTOŠ, et al.: Národní implementační plán Stockholmské úmluvy o persistentních organických polutantech. Projekt TOCOEN, s.r.o., Brno v zastoupení Konsorcia RECETOX – TOCOEN & Associates, TOCOEN REPORT No. 293, Brno, leden 2006, 99 s. + 11 příloh.
- [50] KOCAN, Anton, Jan PETRIK a Stanislav JURSA. Environmental contamination with polychlorinated biphenyls in the area of their former manufacture in Slovakia. *Chemosphere*. 2001, **43**(4-7), 595-600.
- [51] KAŠTÁNEK, František a Petr KAŠTÁNEK. Combined decontamination processes for wastes containing PCBs. *Journal of Hazardous Materials*. **117**(2-3), 185-205.
- [52] NISBET, Ian C. T. a Adel F. SAROFIM. Rates and Routes of Transport of PCBs in the Environment. *Environmental Health Perspectives*. 1972, **1**, 21-38.
- [53] MUIR, Derek C. G., Ross J. NORSTROM a Mary SIMON. Organochlorine contaminants in arctic marine food chains: accumulation of specific polychlorinated biphenyls and chlordane-related compounds. *Environmental Science & Technology*. 1988, **22**(9), 1071-1079.
- [54] VECCHIATO, Marco, Elena ARGIRIADIS, Stefano ZAMBON, Carlo BARBANTE, Giuseppa TOSCANO, Andrea GAMBARO a Rossano PIAZZA. Persistent Organic Pollutants (POPs) in Antarctica: Occurrence in continental and coastal surface snow. *Microchemical Journal*. 2015, (119), 75-82.
- [55] UBL, Sandy, Martin SCHERINGER, Andreas STOHL, John F. BURKHART a Konrad HUNGERBUHLER. Primary source regions of polychlorinated biphenyls (PCBs) measured in the Arctic. *Atmospheric Environment*. (62), 391-399.
- [56] SOKOL, Roger C., O. S. KWON, Charlotte M. BETHONEY a G.-Yull RHEE. Reductive Dechlorination of Polychlorinated Biphenyls in St. Lawrence River Sediments and Variations in Dechlorination Characteristics. *Environmental Science and Technology*. 1994, **28**(12), 2054-2064.
- [57] KAŠTÁNEK, František, K. DEMNEROVÁ, J. PAZLAROVÁ, J. BURKHARD a Y. MALÉTEROVÁ. Biodegradation of polychlorinated biphenyls and volatile chlorinated hydrocarbons in contaminated soils and ground water in field condition. *International biodeterioration & biodegradation*. 1999, **44**(1), 39-47.
- [58] EVANS, Daniel H., Massoud PIRBAZARI, Sidney W. BENSON, Theodore T. TSOTSIS a Joseph S. DEVINNY. Pyrolytic destruction of polychlorinated biphenyls in a reductive atmosphere. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 1991, 27(3), 253-272 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/0304-3894(91)80053-Q. ISSN 03043894. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/030438949180053Q>

- [59] EVANS, Daniel H., Massoud PIRBAZARI, Sidney W. BENSON, Theodore T. TSOTSIS a Joseph S. DEVINNY. Pyrolytic destruction of polychlorinated biphenyls in a reductive atmosphere. *Journal of Hazardous Materials*. 1991, 27(3), 253-272.
- [60] VAN DER BERG, M., L. BIRNBAUM, A. T. BOSVELD, et al. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environmental Health Perspectives*. 1998, 106(12), 775-792.
- [61] FAROON, O. M., L. S. KEITH, C. SMITH-SIMON, C. T. DE ROSA: Polychlorinated biphenyls: human health aspects. Concise international chemical assessment document. World Health Organization, Ženeva 2003.
- [62] Phytoremediation and bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs): state of knowledge and research perspectives. *Journal of hazardous materials*. 2014, (278), 189-202.
- [63] LAUBY-SECRETAN, B., D. LOOMIS, Y. GROSSE, et al. Carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. *Lancet Oncology*. 2013, 14(4), 287-288.
- [64] HOLOUBEK, Ivan. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) v prostředí. Praha: Český ekologický ústav, 1996. ISBN 80-850-8744-8.
- [65] Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) - Arnika. Hlavní stránka – Arnika [online]. Copyright © 2014 Arnika [cit. 2020-02-15]. Dostupné z: <https://arnika.org/polycyklicke-aromaticke-uhlovodiky-pahs>
- [66] Polycyklické aromatické uhlovodíky. irz.cenia.cz [online]. [cit. 2020-02-15]. Dostupné z: [https://www.irz.cz/repository/latky/polycyklicke\\_aromaticke\\_uhlovodiky.pdf](https://www.irz.cz/repository/latky/polycyklicke_aromaticke_uhlovodiky.pdf)
- [67] KIM, K. H., S. A. JAHAN, E. KABIR a R. J. BROWN. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment International*. 2013, (60), 71-80.
- [68] AKYÜZ, Mehmet a Hasan CABUK. Gas–Particle Partitioning and Seasonal Variation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Atmosphere of Zonguldak, Turkey. *Science of The Total Environment*. 2010, 408(22), 5550-5558.
- [69] Naftalen. irz.cenia.cz [online]. [cit. 2020-02-15]. Dostupné z: <https://www.irz.cz/irz/repository/latky/naftalen.pdf>
- [70] Anthracen – Arnika. Hlavní stránka – Arnika [online]. Copyright © 2014 Arnika [cit. 2020-02-15]. Dostupné z: <https://arnika.org/anthracen>
- [71] WANG, Zhen, Guangshui NA, Xindong MA, Xiaodan FANG, Linke GE, Hui GAO a Ziwei YAO. Occurrence and gas/particle partitioning of PAHs in the atmosphere from the North Pacific to the Arctic Ocean. *Atmospheric Environment*. 2013, (77), 640-646.
- [72] RICHTER, Henning a J. B. HOWARD. Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons and their growth to soot-a review of chemical reaction pathways. *Progress in Energy and Combustion Science*. 2000, 26(4), 565-608.

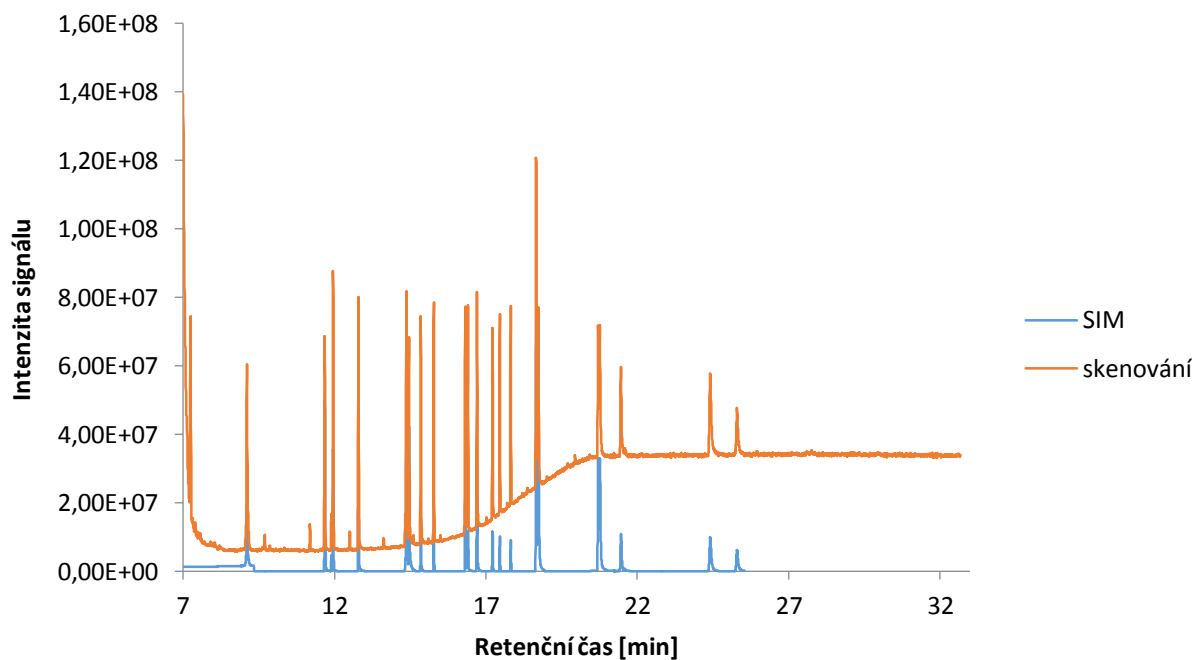
- [73] BOCKHORN, Henning. *Soot Formation in Combustion: Mechanisms and Models*. 1. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1994. ISBN 978-3-642-85169-8.
- [74] DAI, Qianjin, Xuguang JIANG, Yunfan JIANG, Yuqi JIN, Fei WANG, Yong CHI a Jianhua YAN. Formation of PAHs during the pyrolysis of dry sewage sludge. *Fuel*. 2014, **130**, 92-99.
- [75] KIM, Ki-Hyun, Shamin Ara JAHAN, Ehsanul KABIR a Richard J. C. BROWN. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment International*. 2013, **60**, 71-80.
- [76] PCDD a PCDF [online]. [cit. 2020-02-17]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~kudch/main/halogeny/HALOGENY/HALOGENY/chlor/vyznam/PCDD.html>
- [77] PROUSEK, Jozef. *Rizikové vlastnosti látok*. 2. vyd. Bratislava: Vydavateľstvo STU, 2005. Edícia skrípt. ISBN 80-227-2199-9.
- [78] Dioxiny (PCDD/PCDF) - Arnika. Hlavní stránka – Arnika [online]. Copyright © 2014 Arnika [cit. 2020-02-17]. Dostupné z: <https://arnika.org/dioxiny-pcdd-pcdf>
- [79] WEBER, Roland a Takeshi SAKURAI. Formation characteristics of PCDD and PCDF during pyrolysis processes. *Chemosphere*. 2001, **45**(8), 1111-1117.
- [80] Medicabaze.cz: Chlorakné [online]. [cit. 2020-02-15]. Dostupné z: [http://www.medicabaze.cz/index.php?sec=term\\_detail&categId=9&cname=Dermatovenerologie&termId=232&tname=Chlorakn%C3%A9&h=empty#jump](http://www.medicabaze.cz/index.php?sec=term_detail&categId=9&cname=Dermatovenerologie&termId=232&tname=Chlorakn%C3%A9&h=empty#jump)
- [81] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda – nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [82] MAJORS, Ronald. *Sample preparation fundamentals for chromatography*. 1. Kanada: Agilent technologies, 2013.
- [83] KLEJDUS, B. *Separace a identifikace isoflavonů v rostlinném materiálu* [online]. Olomouc, 2004 [cit. 2020-03-19].
- [84] POOLE, Colin, Zoltan MESTER, Manuel MIRÓ, Stig PEDERSEN-BJERGAARD a Janusz PAWLISZYN. Glossary of terms used in extraction (IUPAC Recommendations 2016). *Pure and Applied Chemistry*. 2016, **88**(5), 517-556. DOI: <https://doi.org/10.1515/pac-2015-0903>.
- [85] ABRHA, Yirgaalem a D. RAGHAVAN. Polychlorinated biphenyl (PCB) recovery from spiked organic matrix using accelerated solvent extraction (ASE) and Soxhlet extraction. *Journal of Hazardous Materials*. 2000, **80**(1-3), 147-157.
- [86] HILBER, Isabel, Franziska BLUM, Jens LEIFELD, Hans-Peter SCHMIDT a Thomas D. BUCHELI. Quantitative Determination of PAHs in Biochar: A Prerequisite To Ensure Its Quality and Safe Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, **60**(12), 3042-3050.

- [87] FABBRI, Daniele, Alessandro G. ROMBOLÁ, Cristian TORRI a Kurt A. SPOKAS. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar and biochar amended soil. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2013, **103**, 60-67.
- [88] RICHTER, B. E., J. L. EZZELL, D. E. KNOWLES, et al. Extraction of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans from environmental samples using accelerated solvent extraction (ASE). *Chemosphere*. 1997, **34**(5-7), 975-987.
- [89] BÍLKOVÁ, Kateřina a Blanka KRÁLOVÁ. *Izolace biomakromolekul*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-708-0288-X.
- [90] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [91] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [92] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-030-0569-8.
- [93] JANČOVÁ, Nikola. *Látky terpenické povahy v rostlinách máty a jejich ovlivnění elicitací*. Vysoké učení technické Brno, Fakulta chemická, 2017.
- [94] BARKER, James, D. J. ANDO a Reg. DAVIS. *Mass spectrometry*. 2nd ed. /. New York, c1999. Analytical Chemistry by Open Learning (Series). ISBN 04-719-6764-5.
- [95] Scan Mode and SIM Mode. Shimadzu: Excellence in Science [online]. [cit. 2020-07-12]. Dostupné z: [https://www.shimadzu.com/an/scanmode\\_simmode.html](https://www.shimadzu.com/an/scanmode_simmode.html)
- [96] WORSFOLD, Paul, Alan TOWNSHEND a Colin POOLE. *Encyclopedia of Analytical Science*. 2. Elsevier, 2005. ISBN 978-0-12-369397-6.
- [97] Setting up a SIM Acquisition Method: MS ChemStation. *Agilent Technologies* [online]. , 4 [cit. 2020-07-12]. Dostupné z: <https://www.agilent.com/cs/library/support/documents/a05042.pdf>
- [98] WIITA, Arun P., Julia E. SEAMAN a James A. WELLS. Chapter Thirteen – Global Analysis of Cellular Proteolysis by Selective Enzymatic Labeling of Protein N-Termini. *Methods in Enzymology*. 2014, **544**, 327-358.
- [99] Gas Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (GC-MS-MS). EAG Laboratories: A Eurofins Company [online]. [cit. 2020-07-10]. Dostupné z: <https://www.eag.com/techniques/mass-spec/gc-msms/>
- [100] GC-Triple Quadrupole Mass Spectrometer (GC-MS/MS). *Wageningen: University & Research* [online]. [cit. 2020-07-10]. Dostupné z: <https://www.wur.nl/en/product/GC-Triple-Quadrupole-Mass-Spectrometer-GC-MSMS.htm>
- [101] Targeted Mass Spectrometry (MRM/SRM). *Proteomics International: Laboratories LTD* [online]. [cit. 2020-07-10]. Dostupné z: <https://www.proteomics.com.au/analytical-services/srms-mrm/>

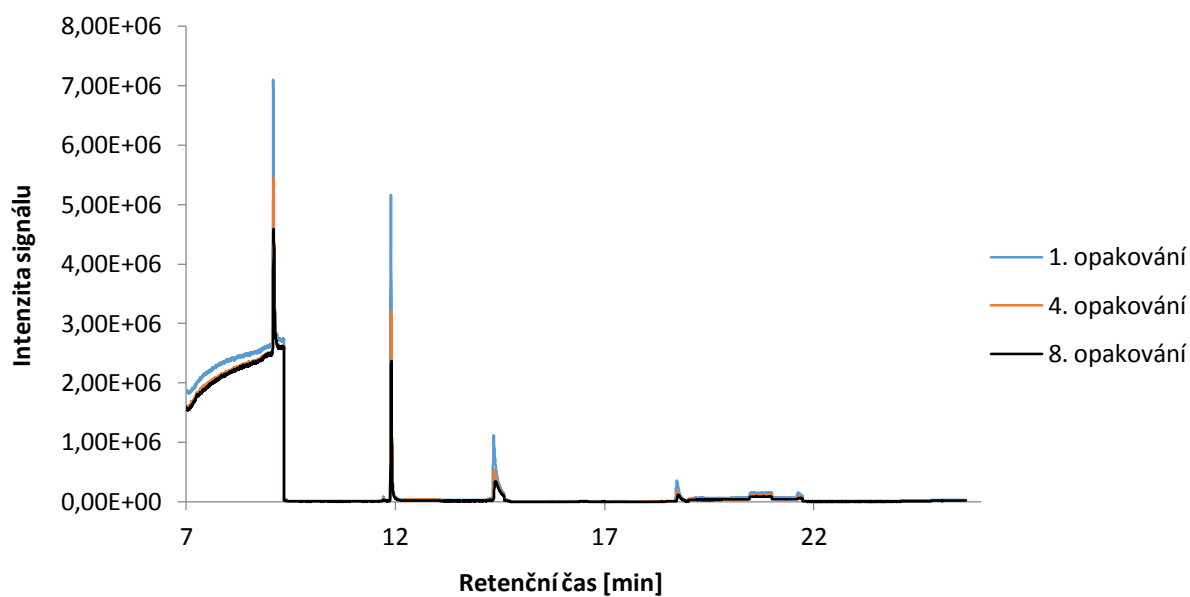
- [102] FAKTOR, Jakub, M. DVOŘÁKOVÁ, Iva PROCHÁZKOVÁ a J. MARYAS. Identification and characterisation of pro-metastatic targets, pathways and molecular complexes using a toolbox of proteomic technologies. *Klinická onkologie: casopis České a Slovenské onkologické společnosti*. 2012, **25**(2), 70-77.
- [103] *METHOD 8082A: POLYCHLORINATED BIPHENYLS (PCBs) BY GAS CHROMATOGRAPHY* [online]. 2007, 56 [cit. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8082a.pdf>
- [104] *METHOD 8275A: SEMIVOLATILE ORGANIC COMPOUNDS (PAHs AND PCBs) IN SOILS/SLUDGES AND SOLID WASTES USING THERMAL EXTRACTION/GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (TE/GC/MS)* [online]. 1996, 23 [cit. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8275a.pdf>
- [105] *METHOD 8270E: SEMIVOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY* [online]. 2018, 64 [cit. 2020-05-07]. Dostupné z: [https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-04/documents/method\\_8260d\\_update\\_vi\\_final\\_03-13-2017\\_0.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-04/documents/method_8260d_update_vi_final_03-13-2017_0.pdf)
- [106] *METHOD 3540C: SOXHLET EXTRACTION* [online]. 1996, 8 [cit. 2020-05-08]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3540c.pdf>
- [107] *METHOD 8290A: POLYCHLORINATED DIBENZO-p-DIOXINS (PCDDs) AND POLYCHLORINATED DIBENZOFURANS (PCDFs) BY HIGH-RESOLUTION GAS CHROMATOGRAPHY/HIGHRESOLUTION MASS SPECTROMETRY (HRGC/HRMS)* [online]. 2007, 72 [cit. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-8290a.pdf>
- [108] *METHOD 8280B: POLYCHLORINATED DIBENZO-p-DIOXINS (PCDDs) AND POLYCHLORINATED DIBENZOFURANS (PCDFs) BY HIGH-RESOLUTION GAS CHROMATOGRAPHY/ LOW-RESOLUTION MASS SPECTROMETRY (HRGC/LRMS)* [online]. 2007, 59 [cit. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8280b.pdf>

## 10 PŘÍLOHA

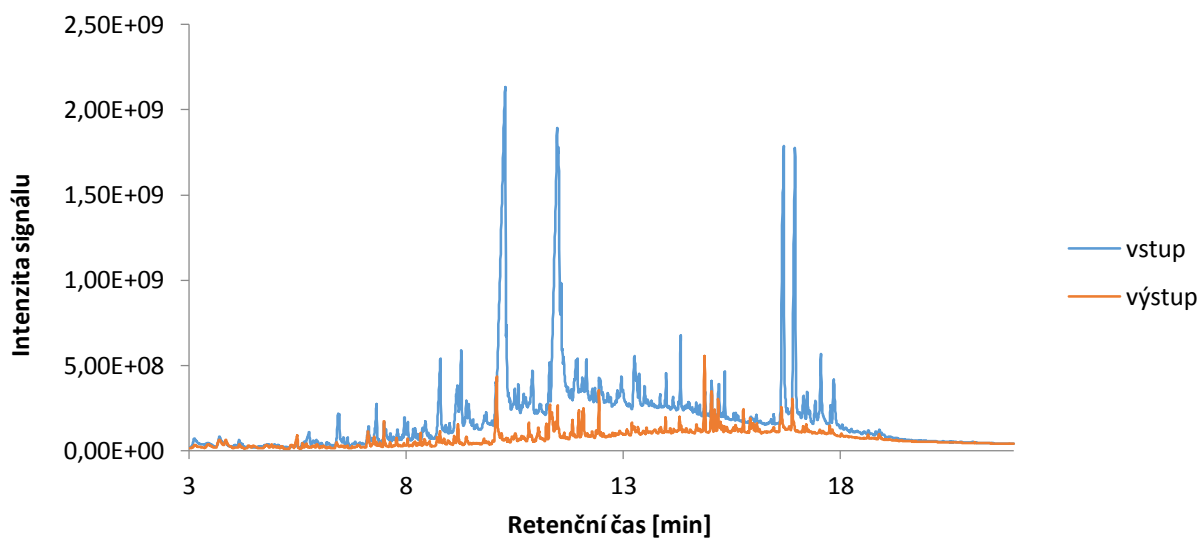
### 10.1 Bruker



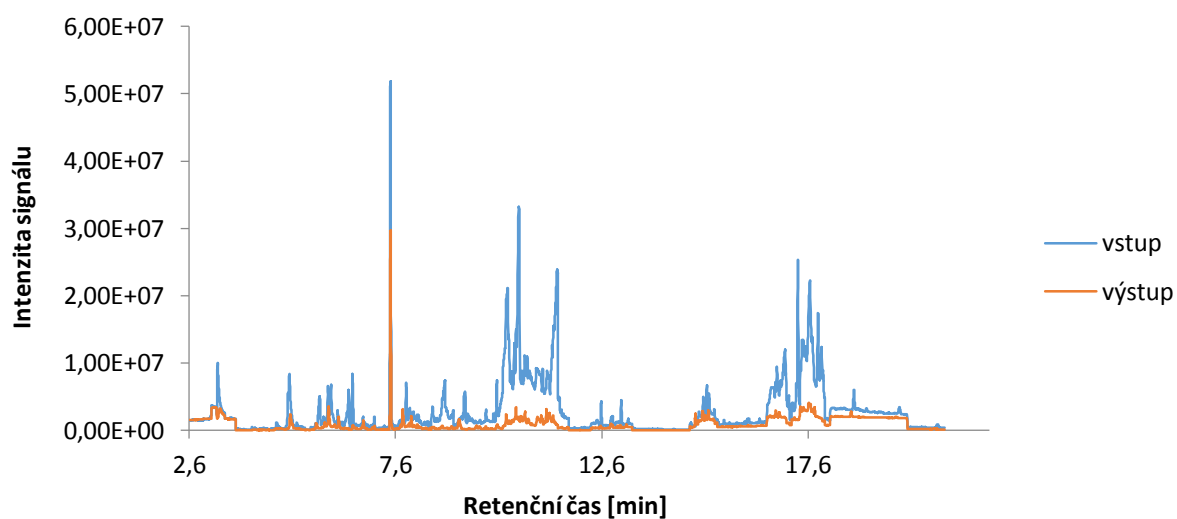
Obrázek 35: Porovnání chromatogramu při metodě skenování a SIM



Obrázek 36: Zkouška reprodukovatelnosti nástřiku na roztoku vnitřních standardů

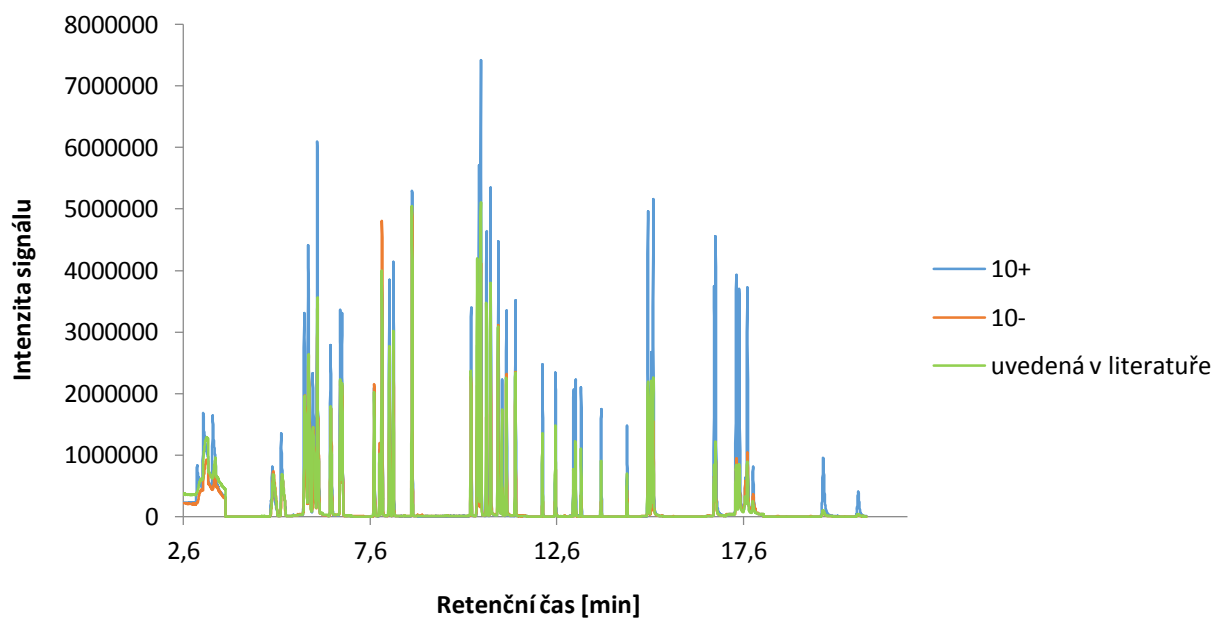


Obrázek 37: Porovnání chromatogramů vstupního a výstupního materiálu při metodě skenování

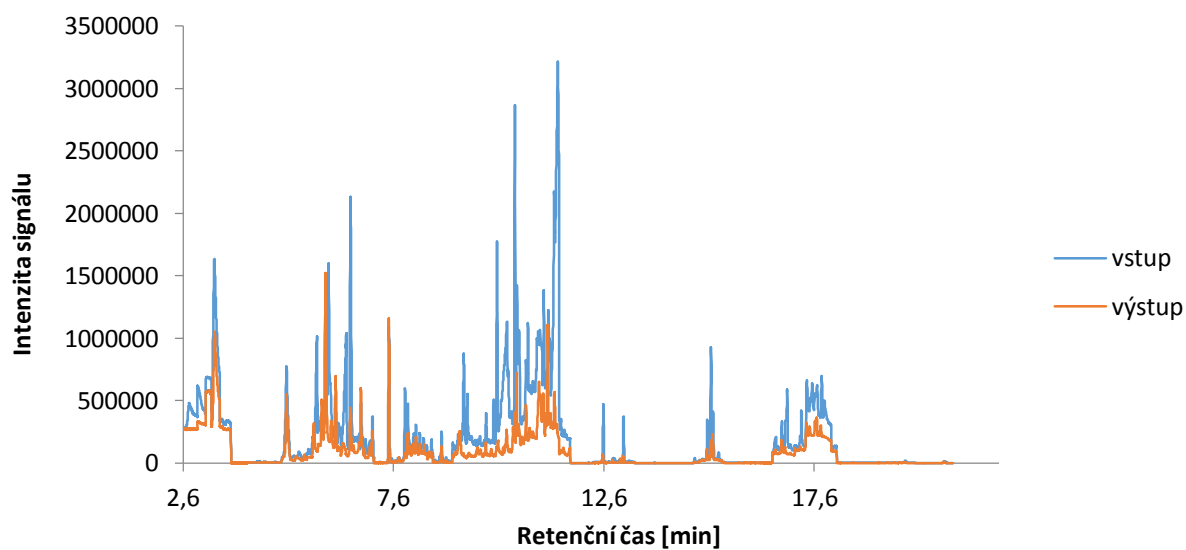


Obrázek 38: Porovnání chromatogramů vstupního a výstupního materiálu při metodě SIM



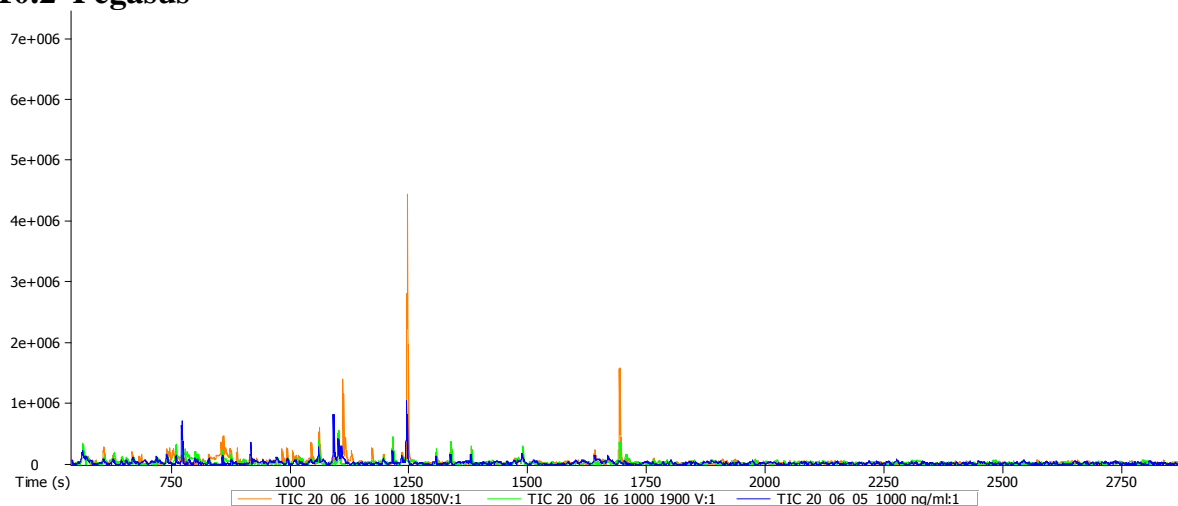


Obrázek 39: Chromatogramy při využití různých kolizních energií při metodě GC/MSMS

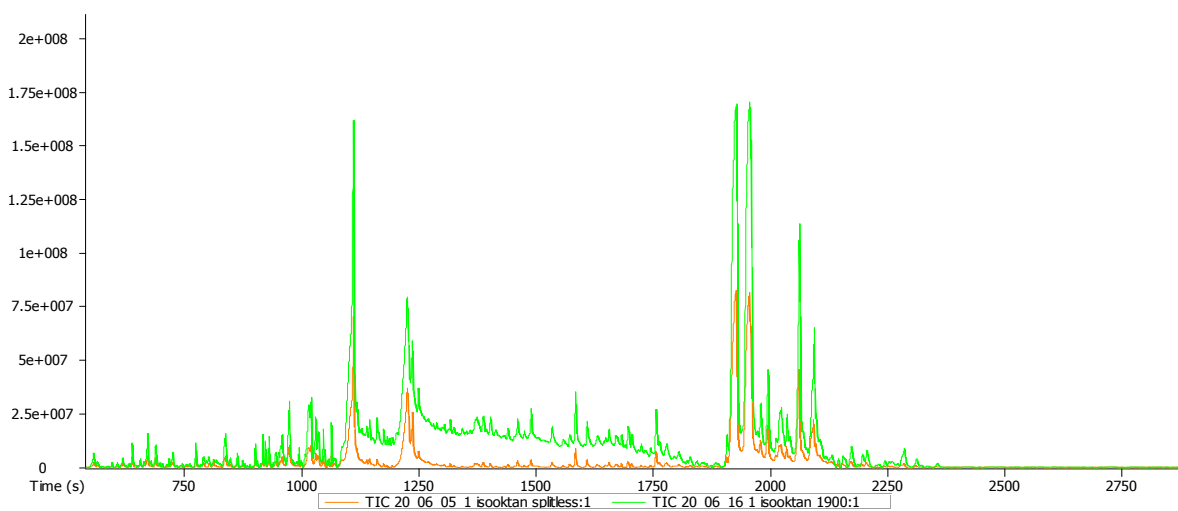


Obrázek 40: Porovnání chromatogramů vstupního a výstupního materiálu při metodě GC/MSMS

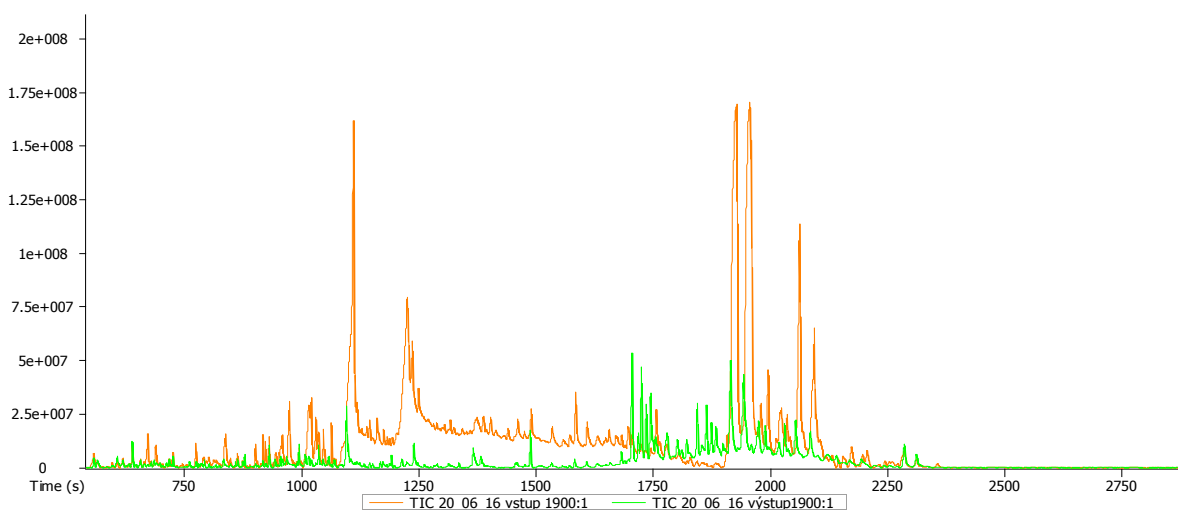
## 10.2 Pegasus



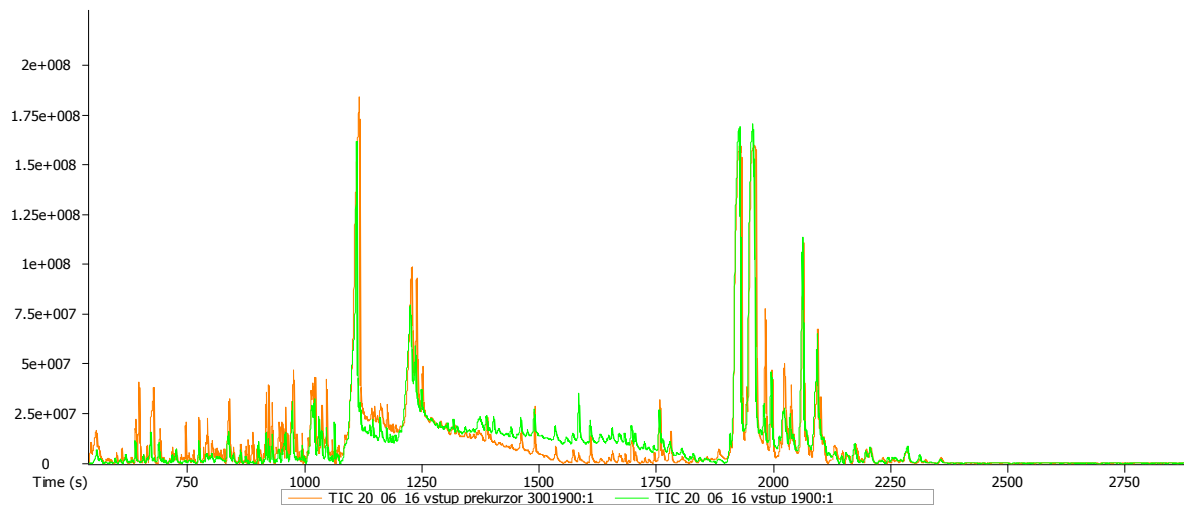
Obrázek 41: Chromatogramy při různém napětí na detektoru



Obrázek 42: Porovnání chromatogramů vstupního materiálu měřeného při různém napětí na detektoru



Obrázek 43: Porovnání chromatogramů vstupního a vřstupního materiálu



Obrázek 44: Porovnání chromatogramů různých vstupních materiálů