



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
Fakulta mechatroniky, informatiky  
a mezioborových studií ■

# Optimalizace metody mikroextrakce na tuhou fázi pro stanovení perzistentních polutantů

## Bakalářská práce

*Studijní program:* B3942 – Nanotechnologie

*Studijní obor:* 3942R002 – Nanomateriály

*Autor práce:* **Petr Hykyš**

*Vedoucí práce:* Mgr. Pavel Hrabák, Ph.D.





TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI  
Fakulta mechatroniky, informatiky  
a mezioborových studií ■

# Optimalization of the solid phase microextraction method for determination of persistent pollutants

## Bachelor thesis

*Study programme:* B3942 – Nanotechnology

*Study branch:* 3942R002 – Nanomaterials

*Author:* **Petr Hykyš**

*Supervisor:* Mgr. Pavel Hrabák, Ph.D.



Technická univerzita v Liberci  
Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií  
Akademický rok: 2017/2018

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Petr Hykyš**  
Osobní číslo: **M14000139**  
Studijní program: **B3942 Nanotechnologie**  
Studijní obor: **Nanomateriály**  
Název tématu: **Optimalizace metody mikroextrakce na tuhou fázi pro stanovení perzistentních polutantů**  
Zadávací katedra: **Ústav nových technologií a aplikované informatiky**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Student provede experimentální ověření vlivu sorpčně-desorpčních podmínek (salinity, tlaku, měrného povrchu sorbentu) v modelovém systému na odezvu detektoru pro perzistentní polutanty.
2. Jako sorbent použije nanovlákná polymerů, která samostatně připraví a charakterizuje.
3. Experimenty vyhodnotí a doporučí optimální parametry nastavení měřící metody v přístroji.

Práce bude mít přínos v oboru environmentální analytické chemie.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Rozsah pracovní zprávy: **30 - 40 stran**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**  
Seznam odborné literatury:

- [1] Bagheri, H., Najarzadegan, H., and Roostaie, A. (2014). Electrospun polyamidepolyethylene glycol nanofibers for headspace solid-phase microextraction. *J. Sep. Sci.* 37, 18801886.
- [2] Derouiche, A., Driss, M.R., Morizur, J.-P., and Taphanel, M.-H. (2007). Simultaneous analysis of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in water by headspace solid-phase microextraction with gas chromatographytandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1138, 231243.
- [3] Pawliszyn, J. (2011). *Handbook of Solid Phase Microextraction* (Elsevier).

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavel Hrabák, Ph.D.**  
Ústav nových technologií a aplikované informatiky

Datum zadání bakalářské práce: **19. října 2017**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **14. května 2018**

prof. Ing. Zdeněk Plíva, Ph.D.  
děkan



Ing. Josef Novák, Ph.D.  
vedoucí ústavu

V Liberci dne 19. října 2017

## Prohlášení

Byl jsem seznámen s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo. Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.


Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL;

v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 10.5.2018

Podpis: 

## **Poděkování**

Touto cestou bych rád poděkoval všem, kteří přispěli ke vzniku této bakalářské práce. V první řadě bych rád poděkoval svému vedoucímu práce Mgr. Pavlu Hrabákovi, Ph.D. za jeho cenné rady a připomínky, které formovaly ráz celé práce. Za pomoc v celém průběhu práce, především při plánování i realizaci testů a vyhodnocení vzorků na plynovém chromatografu, bych chtěl poděkovat mému konzultantovi Ing. Vojtěchu Antošovi. Dále bych chtěl poděkovat kolegům z laboratoře za jejich pozitivní přístup, ochotu a pomoc. Dík patří také Mgr. Vítu Novotnému za měření vzorků polymerních vláken vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií. Děkuji také Ing. Pavlu Kejzlarovi, Ph.D., Ing. Luboši Běhálkovi, Ph.D. za charakterizaci polymerních vláken a Ing. Jiřímu Bobkovi, Ph.D. za realizaci dílů lab-made SPME vláken.

Největší poděkování patří mé rodině a mé přítelkyni za podporu, které si nesmírně vážím.

## Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá optimalizací metody mikroextrakce tuhou fází pro stanovení perzistentních polutantů. Práce navazuje na výzkum mapování kontaminace lokality ze vzorků získaných z biomasy náletových a rychle rostoucích dřevin, sloužících jako indikátor potencionálních ohnisek s uloženým odpadem.

Teoretická část obsahuje všeobecný přehled stěžejních poznatků a informací z oboru analytické chemie z oblasti zájmu této závěrečné práce. Literární rešerše se zaměřuje na popis techniky a přístrojů používaných k vyhodnocení testů v experimentální části. Obsahem je také popis zkoumaných analytů a extrakčních metod.

Experimentální část obsahuje řadu testů, jejichž cílem bylo prozkoumat různé podmínky extrakce analytů. Byly prozkoumány vlivy rozdílných matic, množství matic, extrakčního času, přídavku vody a NaCl. Extrakce probíhaly na vodě, referenční a reálné kontaminované biomase. Vzorky reálné biomasy pocházely z oblasti lomu Hájek. Extrakce probíhaly třemi odlišnými metodami: kapalnou extrakcí, extrakcí komerčním SPME vláknem a nekomerčním nosičem s připravenými polysulfonovými nanovláknem. K analýzám byla použita plynová a vysokoúčinná kapalná chromatografie. Nekomerční SPME vlákna byla potažena vláknem polysulfonu, připravenými elektrostatickým zvlákňováním. Vlákna byla sestavena z dílů vytvořených ve spolupráci se strojní fakultou. Polymerní vlákna byla charakterizována analýzami DSC, TGA, BET a SEM.

Výsledky vytvořené zpracováním této práce budou využity k analytické optimalizaci laboratorní metody pro stanovení HCH v biomase dřevin, tj. lepší její citlivost a reprodukovatelnost.

**Klíčová slova:** hexachlorcyklohexan (HCH), plynová chromatografie (GC), mikroextrakce tuhou fází (SPME), polysulfon (PSU), elektrostatické zvlákňování

## **Abstract**

This bachelor thesis deals with optimization process of solid phase microextraction method for determination of persistent pollutants. The work is motivated by the need to determine tree biomass content of HCH in order to indicate groundwater HCH contamination or places with deposited HCH waste.

The theoretical part contains a general overview of fundamental knowledge and information from the sphere of analytical chemistry from the area of interest of this final work. Literature search focuses on the description of the techniques and devices used to evaluate the tests in the experimental part. It provides also a basic description of the targeted pollutants (analytes) and extraction methods.

The experimental part contains a series of tests which explore the different conditions of extraction of analytes. The effects of different matrices, amount of matrices, extraction time, addition of water and NaCl were investigated. Extractions were carried out on water, reference (clean) biomass and real contaminated biomass. Samples of real biomass came from Hájek quarry. The extractions were carried out by three different methods: liquid extraction, extraction with commercial SPME fiber and non-commercial carrier with polysulfone nanofibers. Gas and high performance liquid chromatography were used for the analytes. Non-commercial SPME fibers were coated with polysulfone fibers prepared by electrospinning. The fiber was made up of parts made in cooperation with the Faculty of Mechanical Engineering. Polymer fibers were characterized by DSC, TGA, BET and SEM analyzes.

Results of this work will be used for the optimization of real laboratory protocol of HCH determination in tree biomass, namely for better method sensitivity and reproducibility.

**Keywords:** hexachlorocyclohexane (HCH), gas chromatography (GC), solid phase microextraction (SPME), polysulfone (PSU), electrospinning



## Obsah

<b>Seznam zkratek</b> .....	<b>11</b>
<b>1 Úvod</b> .....	<b>12</b>
<b>2 Teoretická část</b> .....	<b>13</b>
2.1 Separční metody .....	13
2.1.1 Chromatografie .....	13
2.2 Plynová chromatografie (GC).....	13
2.2.1 Kolony plynových chromatografů .....	14
2.2.2 Detektory plynových chromatografů .....	15
2.2.3 Pracovní režimy plynových chromatografů.....	16
2.2.4 Kvalitativní a kvantitativní analýza .....	18
2.3 Hmotnostní spektrometrie .....	20
2.3.1 Elektronová ionizace .....	21
2.3.2 Tandemová hmotnostní spektrometrie .....	22
2.3.3 Full scan .....	22
2.3.4 Selected reaction monitoring (SRM).....	22
2.4 SPME .....	23
2.4.1 Absorpce a adsorpce.....	23
2.4.2 Headspace extrakce .....	25
2.4.3 SPME vlákna .....	26
.....	27
2.5 Kalibrace SPME pro kvantitativní analýzy.....	28
2.5.1 Metoda externí kalibrace .....	28
2.5.2 Metoda standardního přídávku .....	28
2.5.3 Metoda interního standardu.....	29
2.6 Hexachlorcyklohexany (HCH) .....	30
2.6.1 Lindan (Gamma-Hexachlorcyklohexan) .....	31
2.6.2 Stockholmská úmluva o POPs .....	32
2.6.3 Národní implementační plán Stockholmské úmluvy .....	32
2.7 Lokalita u lomu Hájek .....	33
2.8 Elektrostatické zvlákňování polymerů .....	33
2.9 Polysulfon (PSU).....	34
<b>3 Praktická část</b> .....	<b>35</b>

3.1	Metodika.....	35
3.2	Chemikálie.....	36
3.3	Kompletace lab-made SPME vláken.....	36
3.4	Elektrostatické zvlákňování a výběr polymeru .....	38
3.5	Charakterizace polysulfonu a polysulfonových nanovláken .....	39
3.5.1	DSC, TGA, BET .....	39
3.5.2	Elektronová mikroskopie .....	40
3.6	Kalibrace polysulfonu pro HPLC .....	42
<b>4</b>	<b>Série testů (A až K).....</b>	<b>44</b>
4.1	Test A – opakovatelnost metody pro první typ matrice .....	44
4.2	Test B – opakovatelnost metody pro druhý typ matrice .....	46
4.3	Test C – opakovatelnost metody na reálných vzorcích.....	49
4.4	Test D – vliv různého množství matrice a přídavku vody .....	49
4.5	Test E – studium časové degradace analytů .....	51
4.6	Test F – kalibrace na vodě .....	52
4.7	Test G – kalibrace na vodě s přídavkem NaCl.....	54
4.8	Test H – kalibrace analytů pro odlišné matrice .....	55
4.9	Test I – kalibrace analytů pro odlišné matrice (NaCl) .....	58
4.10	Test J – kalibrace lab-made SPME vlákna .....	60
4.11	Test K – 2 metody extrakce na reálné matrici.....	63
<b>5</b>	<b>Výsledky a diskuze.....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>66</b>
<b>7</b>	<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>67</b>
<b>8</b>	<b>Seznam obrázků .....</b>	<b>70</b>
<b>9</b>	<b>Seznam tabulek .....</b>	<b>71</b>
<b>10</b>	<b>Seznam grafů.....</b>	<b>71</b>

## Seznam zkratk

HCH	Hexachlorocyklohexan
SPME	Solid phase microextraction, mikroextrakce tuhou fází
GC	Gas chromatography, plynová chromatografie
SPE	Solid phase extraction, extrakce tuhou fází
MS/MS	Tandemová hmotnostní spektrometrie
QqQ	Trojité kvadrupól
CID	Kolizně indukovaná disociace
EI	Electron ionization, elektronová ionizace
DI	Direct immersing SPME, přímá extrakce
HS	Headspace SPME
NIP	Národní implementační plán
POP	Perzistentní organický polutant
SRM	Selected reaction monitoring
PEG	Polyethylenglykol
PSU	Polysulfon
DMF	Dimethylformamid
THF	Tetrahydrofuran
CS <sub>2</sub>	Sírouhlík
ISTD	Interní standard
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ELSD	Evaporative light scattering detector
DSC	Diferenciální skenovací kalorimetrie
TGA	Termogravimetrická analýza
BET	Metoda stanovení měrného povrchu
PTFE	Polytetrafluorethylén

# 1 Úvod

Hexachlorcyklohexany (HCH) jsou uměle vyrobené chlorované uhlovodíky, používané jako insekticidy, existující v pěti stabilních izomerních strukturách s výraznými toxickými účinky. Nejvýraznější a v minulosti nejvíce používanou formou z této skupiny je modifikace s gama strukturou, která je označována jako  $\gamma$ -HCH Lindan. Díky svým vlastnostem se řadí mezi perzistentní organické polutanty (Breivik et al. 1999, s. 152-154).

V České republice vyráběla Lindany společnost Spolana Neratovice, která v letech 1966 až 1968 kontaminovala lokalitu výsypky lomu u obce Hájek u Karlových Varů několika tunami balastních izomerů a chlorovaných benzenů z vlastní výroby Lindanu (Diamo 2017).

Cílem této práce je optimalizace metody mikroextrakce tuhou fází těchto perzistentních polutantů na referenčních vzorcích i na vzorcích získaných z lokality u lomu Hájek. Dalším cílem je příprava vlastního (lab-made) SPME vlákna, které bude využitelné při extrakcích izomerů HCH.

V první řadě byla provedena rešerše vědeckých článků zabývajících se zvláknováním polymerů, vhodných pro účely analýz této bakalářské práce. Nanovlákna polymeru byla elektrostaticky zvlákněna a charakterizována. Následovala homogenizace matic získaných z kmenů referenčních i kontaminovaných stromů dvěma metodami – přímočarou pilou a klasickým vrtákem, pro průzkum vlivu zrnitosti matrice. Tyto dvě metody byly porovnány a byla vybrána nejefektivnější metoda. V další fázi byly vzorky biologické matrice podrobeny 3 extrakčním metodám – kapalně extrakci, extrakci komerčním SPME vláknem a poté extrakci lab-made nosičem s polysulfonovými nanovláknem. Dále byl experimentálně prozkoumán vliv salinity na maximální odezvu detektoru, přidavek vody, časová degradace analytů, vliv extrakčního času a vliv množství matrice.

## **2 Teoretická část**

### **2.1 Separační metody**

V analytické chemii se využívají separační techniky pro kvalitativní i kvantitativní analýzy, jenž dělí směsi na jednotlivé složky. Hlediska, která separační metody charakterizují, jsou 3. V první řadě je to selektivita metody, jež vyjadřuje schopnost separovat látky na základě jejich specifických vlastností, například na základě odlišných velikostí nebo polarit molekul. Dále separační metody charakterizuje rozsah použitelnosti, který určuje, jaké typy vzorků mohou být separovány určitou metodou. V poslední řadě také záleží na frakcionační kapacitě, jež udává maximální počet složek separovaných v jednom kroku. U plynové chromatografie nabývá frakcionační kapacita hodnoty až několik set, oproti jiným metodám, kdy se vzorek dělí například jen na dvě části (sublimace, krystalizace). Separační metody se dále dělí na 3 skupiny. Pro tuto práci je důležité zmínit jen jednu větev dělení, a to metody založené na rovnovážné distribuci složek mezi dvě fáze. Tato metoda je založena na tendenci pronikání složek do fáze, ve které dojde ke snížení jejího chemického potenciálu. Existují 4 fázové přechody: plyn–kapalina, plyn – pevná látka, kapalina – kapalina a kapalina – pevná látka (Klouda 2003, s. 9).

#### **2.1.1 Chromatografie**

Chromatografie se řadí mezi separační metody, jejichž principem je rozdělení molekul analytu na základě odlišné afinity ke stacionární fázi. Obecně se postupuje tak, že se na začátek stacionární fáze vloží vzorek, který je poté unášen mobilní fází. Intenzita interakcí molekul se stacionární fází, je pro různé dvě molekuly odlišná a tím se od sebe separují. Chromatografie se dělí do určitých skupin: podle skupenství mobilní fáze (např. plynová chromatografie), podle uspořádání stacionární fáze a dle povahy děje, který převládá při separaci (Klouda 2003, s. 10).

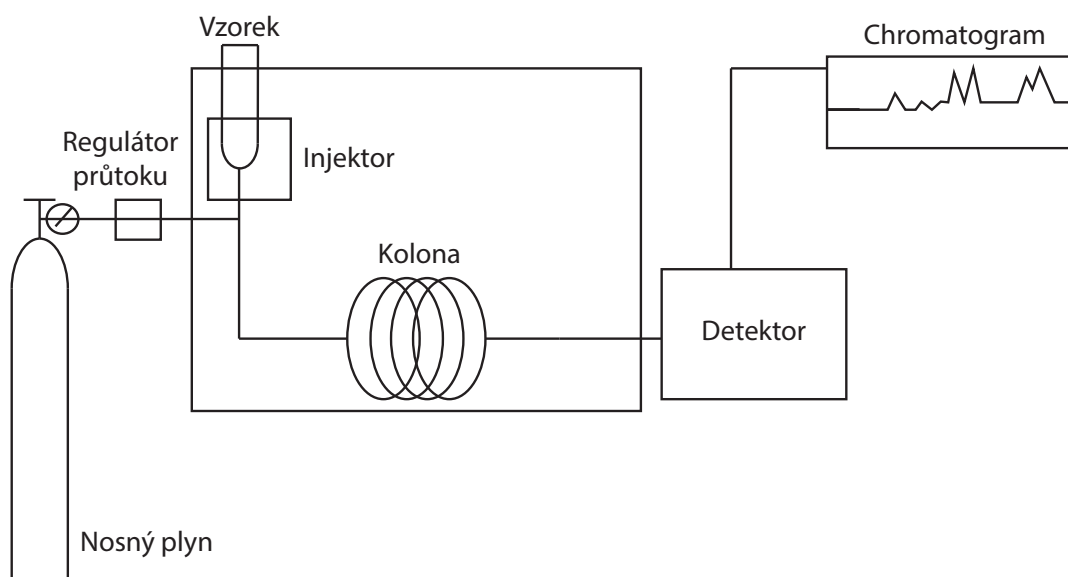
### **2.2 Plynová chromatografie (GC)**

Plynová chromatografie je separační metoda využívaná k určování složek a jejich poměrů ve směsích. Metoda využívá dvou již zmíněných fází. Jako mobilní fáze se používá nosný plyn, zejména vodík, dusík, helium či argon, sloužící k transportu analytů z měřeného vzorku. Stacionární fáze je ve formě polymerního filmu umístěného v koloně, kde dochází k interakci a k dělení jednotlivých složek vzorku podle jejich struktury.

Jednotlivé složky opouštějí kolonu v různých časových intervalech v závislosti na intenzitě interakce analytu s polymerním filmem. Na konci tohoto procesu detektor umístěný za kolonou vyhodnotí signál, na základě kterého je vykreslena chromatografická křivka – chromatogram (Stashenko a Ren 2014, s. 1-2).

Metodu GC lze využít k analýze vzorků plynů, kapalných roztoků a těkavých látek. V případě, že vzorek není těkavý, je možné využít techniku derivatizace (Grob a Barry 2004, s. 37).

Pro účely této práce byl použit plynový chromatograf Thermo Trace 1310 s hmotnostních spektrometrem.



*Obrázek 1: Schéma plynové chromatografie*

### **2.2.1 Kolony plynových chromatografů**

Kolona je součástí chromatografu, ve které se nachází stacionární fáze a dochází zde k separaci složek měřených vzorků. Kolony se dělí na náplňové a kapilární. Náplňové kolony jsou vyrobeny z oceli nebo skla, ve tvaru 2–3 mm širokých trubic s délkou 1 až 3 metry. Uvnitř trubic se nachází sorbenty nebo nosiče s kapalnou fází. Pro různé chromatografické metody se používají různé sorbenty. Pro zvýšení účinnosti separace částic, při stejné délce kolony, se využívají mikronáplně (průměr částic okolo 10  $\mu\text{m}$ ). Kapilární kolony se obvykle vyrábějí z taveného křemene a jejich průměr se pohybuje mezi 0,1 až 0,6 mm s délkou okolo 30 metrů. Stacionární fáze se zde nachází přímo na stěnách kapilár v tloušťce několika mikrometrů. Účinnost separace u tohoto typu kolon klesá s rostoucím vnitřním průměrem trubic a větší tloušťkou stacionární fáze. Ke

zlepšení mechanických vlastností kapilár se používá polyimid, kterým jsou obaleny po celém povrchu. Chrání je také před vysokými teplotami (až do 350 °C). V závislosti na odlišné polaritě vzorků je třeba vybírat i správné kolony s vhodnými stacionárními fázemi pro analýzy měřených látek. Existují 4 druhy stacionárních fází: nepolární, slabě polární, středně polární a polární. Příkladem kapalných stacionární fáze může být poly(dimethylsiloxan) nebo polyethylenglykol (Klouda 2003, s. 12-13).

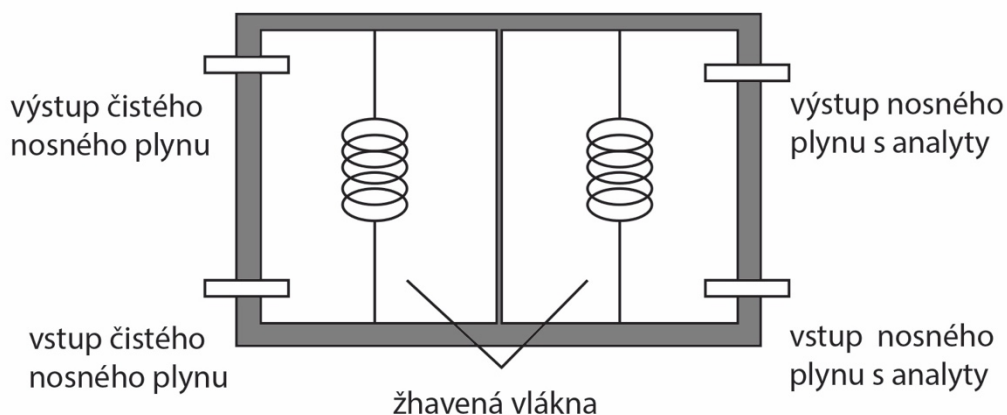
Plynový chromatograf používaný pro účely této práce byl vybaven chromatografickou kolonou DB-5MS s délkou 30 m, šířkou 0,25 mm a tloušťkou filmu 0,25 µm.

### **2.2.2 Detektory plynových chromatografů**

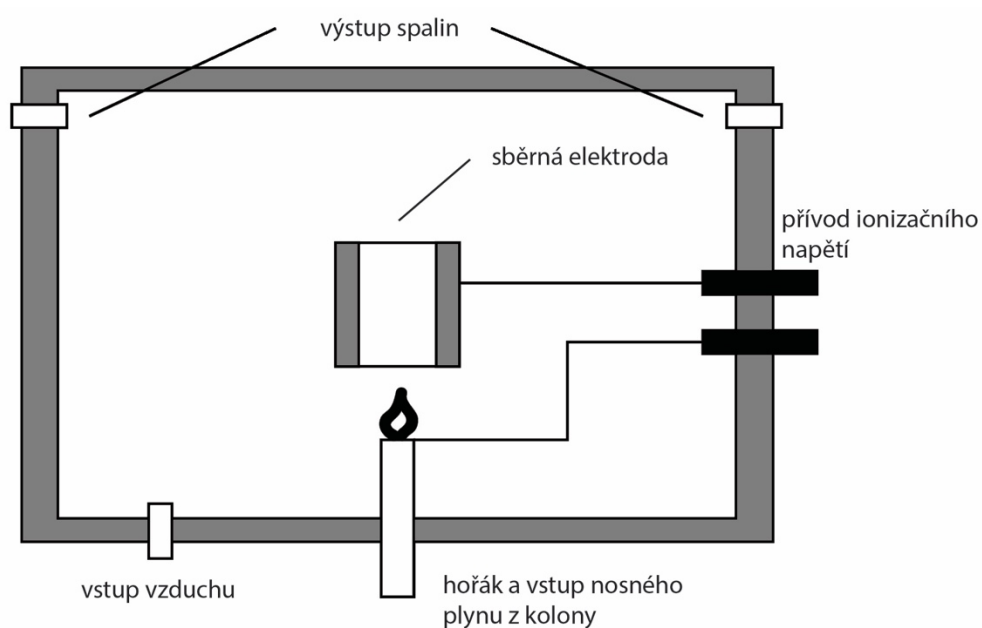
Detektor vyhodnocuje signál získaný přítomností jednotlivých složek analytů v závislosti na čase. V praxi jsou nejvíce využívány tepelně-vodivostní detektor, plamenový ionizační detektor a detektor elektronového záchytu. Tepelně vodivostní detektor se nejvíce využívá při analýzách anorganických plynů a nízkomolekulárních látek. Detektor obsahuje dvě žhavená vlákna. Přes jedno vlákno proudí čistý nosný plyn a přes druhé plyn s analyty. Porovnává se změna teploty a elektrický odpor obou vláken. Nosný plyn se u tohoto typu detekce vybírá tak, aby měl co nejodlišnější tepelnou vodivost, oproti zkoumaným analytům (vodík, helium). Plamenový ionizační detektor funguje na základě elektrické vodivosti plynů, jejichž molekuly se ionizují v plameni hořáku a vedou proud mezi dvěma elektrodami. Výskyt analytu zvyšuje ionizaci a tím i elektrický proud. Tento druh detekce je velice citlivý, zejména na uhlovodíky. Detektor elektronového záchytu se využívá k analýze halogenových sloučenin. Principem je uvolňované záření radioaktivního izotopu Niklu ( $^{63}\text{Ni}$ ), které ionizuje nosný plyn a tím dochází ke vzniku ionizačního proudu. V důsledku uvolňování volných pomalých elektronů, které zachycují neutrální atomy složek analytů (halogenové skupiny), se významně mění ionizační proud. Při porovnání signálu se signálem nosného plynu bez přítomnosti analytů, je možné určit množství elektronegativních složek měřeného vzorku (Klouda 2003, s. 13-14).

Pro určení složek neznámých směsí se jako detektor využívá hmotnostní spektrometr (MS), kde k analýze iontů dochází v kvadrupólovém analyzátoru, nebo v iontové pasti. Pro jednotlivé složky je tímto způsobem získáno hmotnostní spektrum za předpokladu, že byly v chromatografické části přístrojové sestavy rozseparovány – nekoelují. Získané spektrum lze poté porovnat s existující knihovnou spekter sloučenin,

na základě které je možno neznámou látku identifikovat (Klouda 2003, s. 14). Pro účely této práce byl použit hmotnostní detektor TSQ 8000 s trojitým kvadrupólem. MS je podrobněji rozebrán v kapitole 2.3.



Obrázek 2: Tepelně-vodivostní detektor



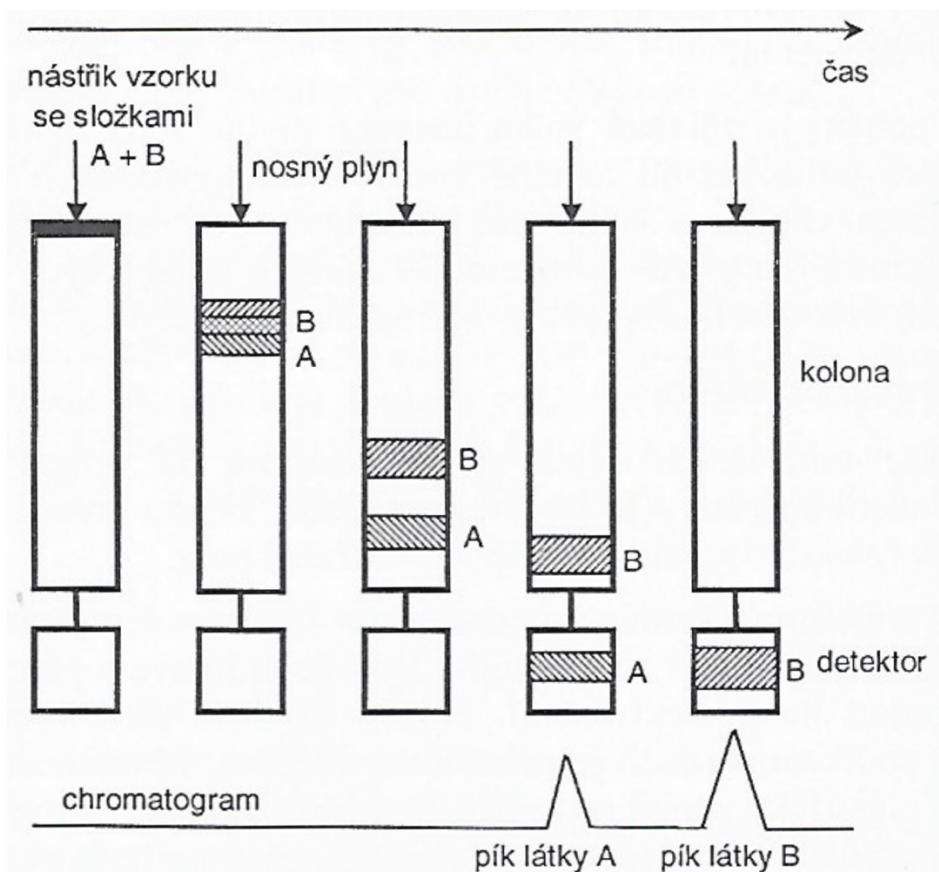
Obrázek 3: Plamenový ionizační detektor

### 2.2.3 Pracovní režimy plynových chromatografů

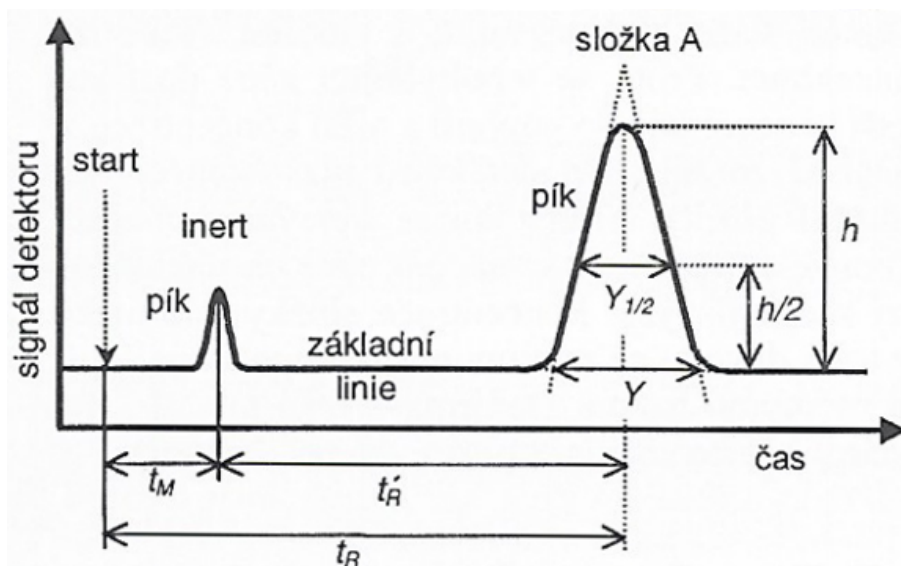
Eluční metoda je nejběžnějším režimem používaným v praxi. Nosný plyn se v tomto případě nazývá eluent a po průchodu kolonou je označován jako eluát. Tato metoda využívá jednorázového dávkování měřeného vzorku do nosného plynu, který poté prochází skrz kolonu. Čas průchodu kolonou je pro každou složku zkoumaného vzorku charakteristický a využívá se k její identifikaci. Výstupem je soubor píků, jež vykreslují grafickou závislost signálu vyhodnoceného detektorem na čase. Plocha píku dále určuje



kvantitativní informaci o analytu. Méně využívanými režimy jsou metody frontální a vytěšňovací, jejichž chromatogramy se od eluční metody významně liší (Klouda 2003, s. 14-15).



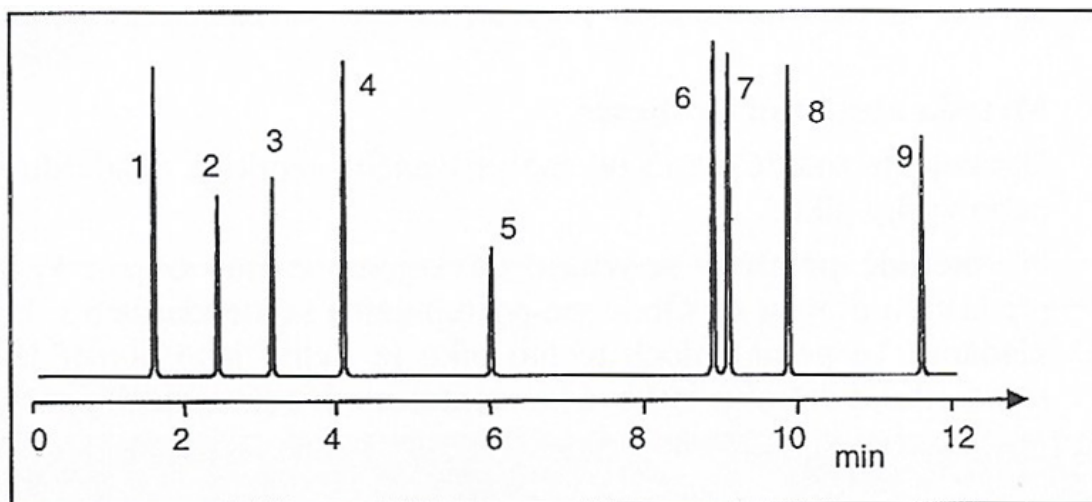
Obrázek 4: Eluční metoda (Klouda 2003, s. 14)



Obrázek 5: Popis ideálního chromatogramu při eluční metodě.  $h$  = výška píku,  $Y$  = šířka píku v základně,  $Y_{1/2}$  = šířka píku v polovině výšky,  $A$  = plocha píku (Klouda 2003, s. 15)

## 2.2.4 Kvalitativní a kvantitativní analýza

Kvalitativní analýzou je myšleno určení složení měřeného vzorku. Vyhodnocením retenčních dat se vykreslí píky a na základě jejich maxim lze identifikovat jednotlivé analyty. Retenční data se dělí na absolutní (retenční čas –  $t_R$ , retenční objem –  $V_R$ , čistý retenční objem –  $V_N$ , specifický retenční objem –  $V_g$ ) a relativní (retenční poměr –  $r_{12}$ , retenční indexy –  $I$ ). Ze všech retenčních charakteristik je retenční čas nejvíce používaný. Naopak v praxi je nejméně využívaný specifický retenční objem, jelikož je třeba znát exaktní údaje o parametrech a procesech (např. množství stacionární fáze, objemový průtok), které nejsou vždy všechny k dispozici. Retenční poměr určuje poměr redukovaných retenčních časů složky a standardu (Klouda 2003, s. 21-22).



Obrázek 6: Příklad chromatogramu kvalitativní analýzy průmyslových rozpouštědel, 1 - hexan, 2 - aceton, 3 - ethylacetát, 4 - ethanol, 5 - chloroform, 6 - p-xylen, 7 - m-xylen, 8 - o-xylen, 9 - cyklohexanon (Klouda 2003, s. 21)

Kvantitativní analýzou je myšleno určení množství nebo koncentrace složek v měřeném vzorku, které charakterizuje plocha píku. V dnešní době je plocha píku počítána digitálními integrátory. Kvantitativní analýza může proběhnout několika pracovními technikami: metodou vnitřní normalizace, metodou absolutní kalibrace, metodou vnitřní standardizace a metodou standardního přídatku. Metoda vnitřní normalizace je založena na součtu všech ploch píků. Součet ploch pak tvoří 100 % a jednotlivé píky pak lze vyjádřit jako procentuální části z celku podle rovnice:

$$x_i = \frac{A_i}{\sum_{j=1}^n A_j} \quad (1)$$

Metoda absolutní kalibrace využívá znalosti dávkovaného objemu vzorku a standardu za totožných podmínek. Dělí se dále na metodu přímého srovnání a na metodu kalibrační křivky. Technikou přímého srovnání se nastříkuje známý objem vzorku  $V_i$  látky  $i$ , standardu  $s$  a vyhodnotí se jejich plochy píků. Poměr ploch píků lze následně dát do rovnosti s poměrem látkových množství měřené látky a standardu. Ze znalosti definice látkového množství se pak určí vztah pro výpočet koncentrace složky ve vzorku podle následujících rovnic:

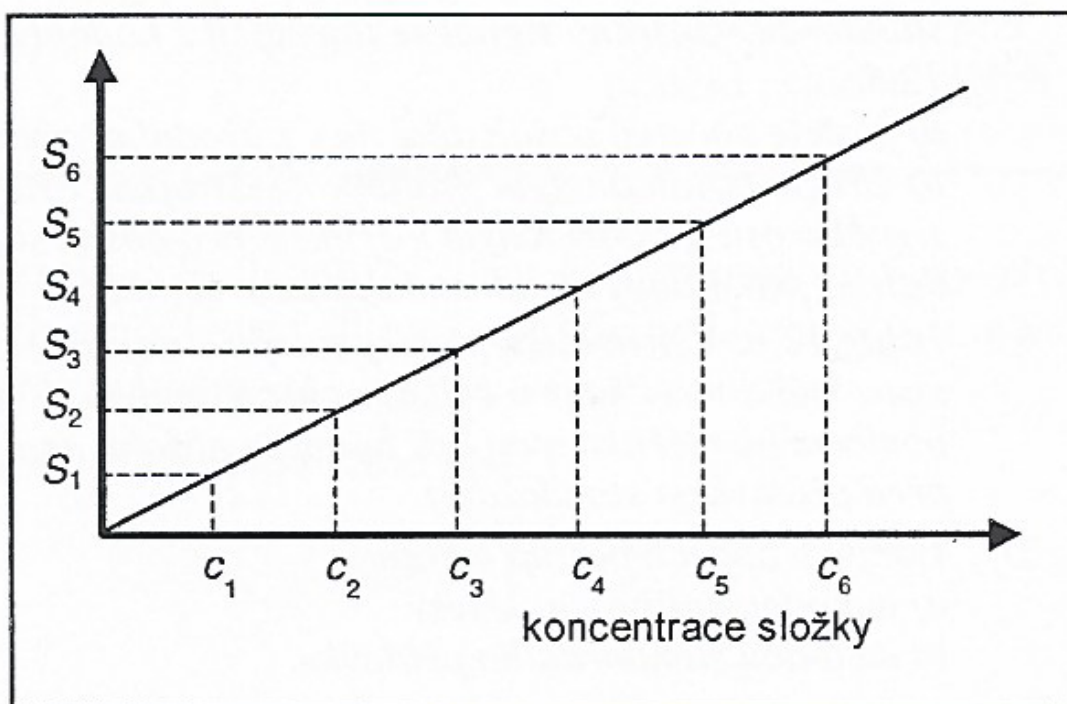
$$\frac{A_i}{A_s} = \frac{n_i}{n_s} \quad (2)$$

$$c_i = \frac{n_i}{V_i} = n_s \frac{A_i}{V_i A_s} = \frac{c_s V_s A_i}{V_i A_s} \quad (3)$$

Pokud je podle rovnice 3 dávkován stejný objem, pak se vztah zjednoduší:

$$c_i = \frac{c_s A_i}{A_s} \quad (4)$$

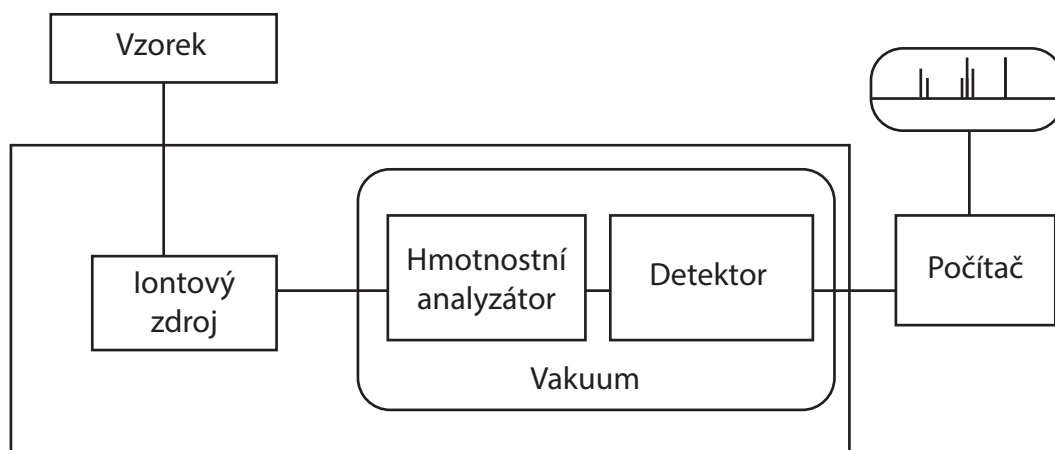
Metoda kalibrační křivky spočívá v sestrojení lineární závislosti plochy píku na koncentraci analytu na základě nástřiku série standardních roztoků, jež obsahují postupně zvyšující se obsah stanovované složky. Po srovnání zkoumaného vzorku a kalibrační křivky je možné stanovit koncentraci analytu v měřeném roztoku. Směrnice křivky navíc určuje citlivost metody. Čím více se tvar křivky odlišuje od přímky, tím větší chybou je měření zatíženo (Klouda 2003, s. 22-23).



Obrázek 7: Kalibrační křivka (Klouda 2003, s. 7)

### 2.3 Hmotnostní spektrometrie

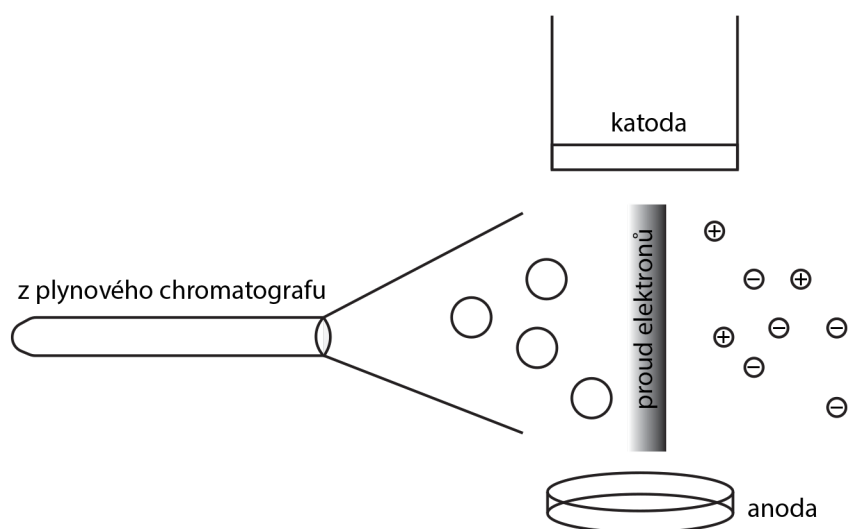
Hmotnostní spektrometrie je analytická metoda, využívající separaci částic na základě poměru jejich hmotnosti a náboje ( $m/z$ ) k určení hmotností částic, či k objasnění chemické struktury molekul. Náboj v plynové chromatografii, využívající hmotnostní spektrometr (GC/MS), je většinou roven jedné (Kitson et al. 1996, s. 9).



Obrázek 8: Schéma hmotnostního spektrometru

### 2.3.1 Elektronová ionizace

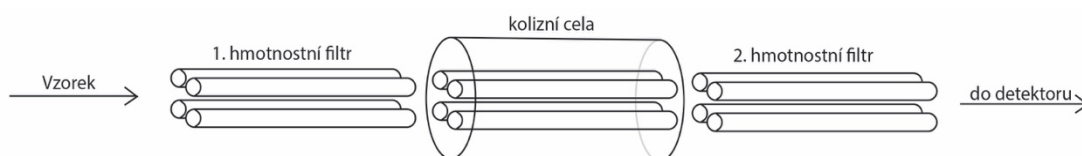
Pro hmotnostní spektrometrii je využíváno mnoho ionizačních technik, přičemž některé produkují velké množství energie a způsobují rozsáhlou fragmentaci, která je mnohdy užitečná, jelikož nese informaci o struktuře. Elektronová ionizace (EI) je jednou z nich a je v organické hmotnostní spektrometrii velmi používaná. Zdroj se skládá z vyhřívaného wolframového vlákna, které emituje elektrony. Elektrony jsou zrychleny směrem k anodě, kde dochází ke srážkám s plynnými molekulami analytu, který je vstříkován do zdroje. Aby nedošlo ke srážkám s molekulami vzduchu, vše probíhá za hlubokého vakuu (až  $10^{-5}$  Pa) (Hoffmann a Stroobant 2007, s. 15-16).



Obrázek 9: Schéma elektronové ionizace

### 2.3.2 Tandemová hmotnostní spektrometrie (trojitý kvadrupol, QqQ)

Tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS) využívá k potlačení šumu (např. z komplikovaných biologických matic) dvoustupňové hmotnostní analyzátoři. První kvadrupol (Q1) slouží k izolaci prekurzorového iontu po první fragmentační ionizaci, dráha ostatních iontů je modulací elektromagnetického pole ukončena na jeho elektrodách. Prekurzorový ion vstupuje do kolizní cely (Q2) kde se dále dělí za vzniku nabitého a neutrálního fragmentu. Třetí kvadrupol (Q3) je nastaven na průlet produktových iontů. Q1 a Q2 fungují v tomto režimu jako iontové filtry, kde výrazně redukují matricový šum. Do Q2 je přiveden čistý kolizní plyn o nízkém tlaku (např. Ar). Na konci analyzátoři je vlastní detektor s násobičem, který intenzitu dopadajících iontů převádí na elektrický signál. Trojitý kvadrupol může pracovat ve dvou režimech: Full scan a SRM (Hoffmann a Stroobant 2007, s. 189) a (Friedecký a Lemr 2012).



Obrázek 10: Schéma trojitého kvadrupólu

### 2.3.3 Full scan

V tomto režimu jsou Q2 a Q3 vyřazeny z provozu, systém skenuje nastavený rozsah  $m/z$  v Q1. Umožňuje získat plná fragmentační spektra látek a je tak základem pro získání retenčního času analytů a kvalitativní analýzu. Výhodou je větší množství přímých dat a také možnost retrospektivního vyhledávání dat o analytech, jenž nebyly primárně pro měření zamýšleny (Mol et al. 2016, s. 162). Nevýhodou je nižší citlivost, protože systém detekuje i necílové organické látky (složky matrice).

### 2.3.4 Selected reaction monitoring (SRM)

SRM je režimem, který využívá plnou funkci QqQ pro kvantitativní analýzu. První a třetí kvadrupól zde fungují jako hmotnostní filtry, které vybírají předem stanovené poměry  $m/z$  jednotlivých částic. Druhý kvadrupól je kolizní celou. Monitorují se přechody (prekurzor/produkt) v čase, na základě kterých lze získat sadu chromatografických stop, které nesou informaci o retenčním čase a intenzitě signálu přechodu. Přechodem se označuje specifická dvojice hodnot  $m/z$  vybraných prekurzorů

a produktů. SRM je až 100krát citlivější metodou než full scan (Lange et al. 2008, s. 2-5).

## **2.4 SPME**

Mikroextrakce na tuhou fázi je izolační metoda využívající proces adsorpce a desorpce na křemenné, či ocelové vlákno, potažené polymerem, které plní funkci stacionární fáze. Stacionární fáze se dělí na dva typy – absorbenty a adsorbenty, kde sorpce probíhá dvěma odlišnými mechanismy. Mezi první typ se řadí homogenní polymery, jež využívají migraci analytů přímo do polymerní fáze na základě dosažení rovnovážného stavu, závislého na koncentraci analytu ve vzorku a tloušťce vrstvy polymeru. Obecně platí, že čím je větší tloušťka vrstvy, tím více analytu se na fázi nasorbuje. Na druhou stranu se s rostoucím průměrem zvyšuje doba desorpce. Druhý typ využívá porézní materiály, kde se měřené látky sorbují na povrch díky fyzikálním interakcím. Výtěžek extrakce lze podpořit zahříváním a mícháním vzorku (Procházková 2002, s. 829-831).

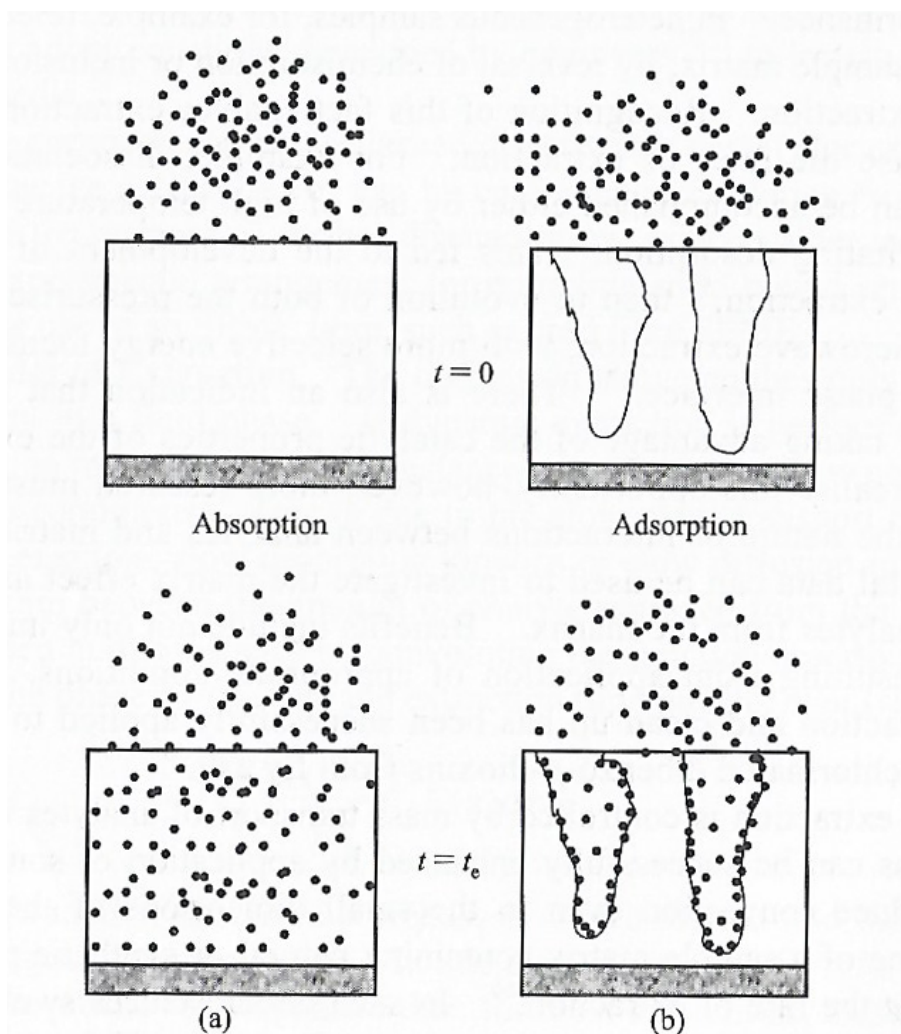
Metoda SPME je vhodná pro získávání kvantitativní i kvalitativní informace o vzorku. Absence organických rozpouštědel a komplikovaných zařízení pro detekci koncentrací těkavých i netěkavých látek je velkou výhodou této metody. Další výhodou je menší časová náročnost oproti extrakci kapalina–kapalina nebo SPE (Procházková 2002, s. 829-831).

Vzorkování může probíhat třemi metodami – přímou extrakcí (DI), headspace (HS) a membránovou SPME. V prvním případě se extrahují netěkavé analyty přímo na vlákno ponořením do vzorku. Headspace metoda je vhodná pro vysokomolekulární těkavé analyty, jelikož je vlákno umístěno v plynné fázi nad měřenou maticí. V případě, že měřený vzorek obsahuje oba typy sloučenin, je vhodné použít membránovou SPME extrakci (Pawliszyn 2012, s. 14-15). Oproti kapalným nástřikům je SPME metoda šetná k iontovým zdrojům QqQ systémů (je možné řádově většího množství nástřiků, než klesne odezva přístroje).

### **2.4.1 Absorpce a adsorpce**

V úvodu této kapitoly je důležité zdůraznit rozdíl mezi absorpcí a adsorpcí při extrakci na vlákno potažené extrakční fází. Absorpce probíhá u kapalných vrstev, kde analyty migrují přímo do objemu extrakční fáze. Zatímco u pevných sorbentů se analyty adsorbují pouze na povrch, kvůli krystalické struktuře, jež velmi výrazně snižuje difúzní

koeficient. Analýza pevnou fází je limitována její omezenou plochou. Je třeba brát v úvahu, že v případě použití pevných sorbentů pro dlouhé extrakční časy, jsou látky se slabou afinitou k extrakční fázi nahrazovány analyty se silnějšími vazbami, nebo látkami, které se ve vzorku nacházejí ve vysokých koncentracích (Pawliszyn 2012, s. 46-47).



Obrázek 11: Mechanismus sorpce kapalných (a) a pevných (b) sorbentů (Pawliszyn 2012, s. 46)

Jak již bylo uvedeno dříve, extrakční proces SPME je založen na rozdělení analytu mezi maticí vzorku a vlákna. Exhaustní extrakce je možná jen za určitých podmínek a jen v případě malého objemu vzorku s analyty, které mají velkou afinitu k extrakční fázi. Ve většině případů dochází jen k extrakci zlomkového obsahu stanovovaných látek. Množství analytu  $n$  extrahovaného pomocí absorpce mezi dvoufázovým systémem za rovnovážných podmínek, popisuje rovnice číslo 5.



$$n = \frac{K_{fs}V_sV_fC_0}{V_s + K_{fs}V_f} \quad 5$$

Kde  $K_{fs}$  je rozdělovací koeficient systému vlákno/vzorek,  $V_f$  je objem povlaku na povrchu vlákna,  $V_s$  je objem vzorku a  $C_0$  je počáteční koncentrace analytu ve vzorku. Z této rovnice vyplývá lineární závislost počáteční koncentrace analytů a následného vyextrahovaného množství stanovovaných látek ze vzorku. Mezi další faktory, které ovlivňují efektivitu procesu, se řadí například obsah soli ve vzorku, vliv teploty a pH (Meyers 2000, s. 2).

Pokud je pro proces použito vlákno s pevnými sorbenty, řídí se extrakce pravidly Langmuirovy teorie dané rovnicí číslo 6, kde  $n$  označuje množství adsorbovaného analytu na povrch polymerního povlaku.

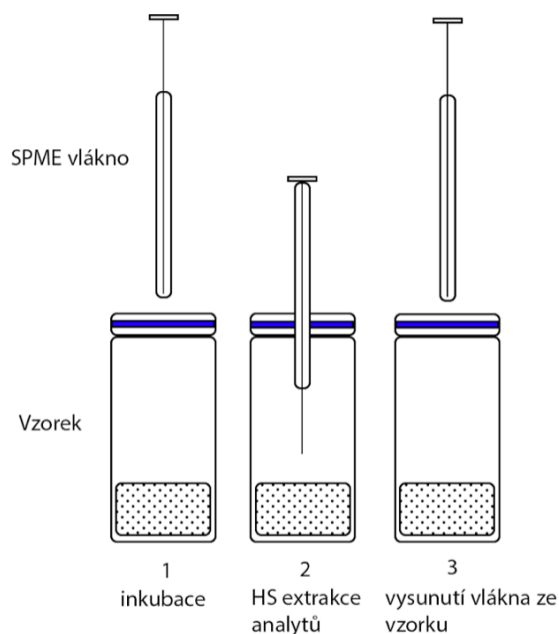
$$n = C_{fA}^{\infty}V_f = \frac{K_A C_{0A} V_s V_f (C_{fmax} - C_{fA}^{\infty})}{V_s + K_A V_f (C_{fmax} - C_{fA}^{\infty})} \quad 6$$

Kde  $C_{fA}^{\infty}$  je koncentrace analytu A v rovnovážném stavu,  $V_f$  je objem povlaku vlákna,  $K_A$  je adsorpční konstanta analytu A,  $C_{0A}$  je počáteční koncentrace analytu A ve vzorku,  $V_s$  je objem vzorku,  $C_{fmax}$  je maximální koncentrace analytu na povrchu extrakční vrstvy (Meyers 2000, s. 2-3).

## 2.4.2 Headspace extrakce

Díky vysokým difúzním koeficientům v plynné části nad vzorkem dochází k usnadnění přenosu analytů do extrakční fáze. Extrakce se dále může urychlit zvyšováním teploty a mícháním. K headspace analýze se používají 20 ml vialky (Pawliszyn 2012, s. 43-44).

Extrakce pomocí headspace metody probíhá následovně. Autosampler v prvním kroku vybere vzorek daný nastavenou sekvencí na počítači. Následuje proniknutí SPME vlákna septem do vialky a vysunutí samotného pístu (do plynné oblasti nad vzorkem), jenž je potažen polymerní vrstvou. Po zvolenou dobu probíhá proces expozice a analyty se adsorbují na extrakční vrstvu. Expozice trvá obvykle 2 až 30 minut, dokud nenastane adsorpční rovnováha a poté se vlákno zatáhne zpět do jehly. Následuje desorpce vlákna v injektoru (Sigma-Aldrich Co. 1998, s. 1-2).



Obrázek 12: Schéma headspace extrakce

### 2.4.3 SPME vlákna

Pro různé typy analytů se používají různé typy SPME vláken, která se vybírají na základě molekulové hmotnosti a polaritě stanovovaných látek. Podle typu analytu jsou doporučena vlákna s odlišnými extrakčními fázemi podle následující tabulky (Sigma-Aldrich Co. 2018).

Tabulka 1: Selekce typů SPME vláken pro určité skupiny analytů (Sigma-Aldrich 2018)

Analyt	Doporučené vlákno
Plyny a sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností	75/85 $\mu\text{m}$ Carboxen/polydimethylsiloxan
Těkavé látky (MW 60–275)	100 $\mu\text{m}$ polydimethylsiloxan
Těkavé látky, aminy a nitrované aromatické sloučeniny (MW 50–300)	65 $\mu\text{m}$ polydimethylsiloxan/divinylbenzen
Polární semi-těkavé látky (80–300)	85 $\mu\text{m}$ polyakrylát
Nepolární sloučeniny s vysokými molekulovými hmotnostmi (MW 125–600)	7 $\mu\text{m}$ polydimethylsiloxan
Nepolární semi-těkavé látky (MW 80–500)	30 $\mu\text{m}$ polydimethylsiloxan
Alkoholy a polární látky (MW 40–275)	60 $\mu\text{m}$ Carbowax (PEG)
Aromatické sloučeniny: těkavé a semi-těkavé látky (MW 40–275)	50/30 $\mu\text{m}$ divinylbenzen/Carboxen na polydimethylsiloxanu
Analýza stopových látek	50/30 $\mu\text{m}$ divinylbenzen/Carboxen na polydimethylsiloxanu



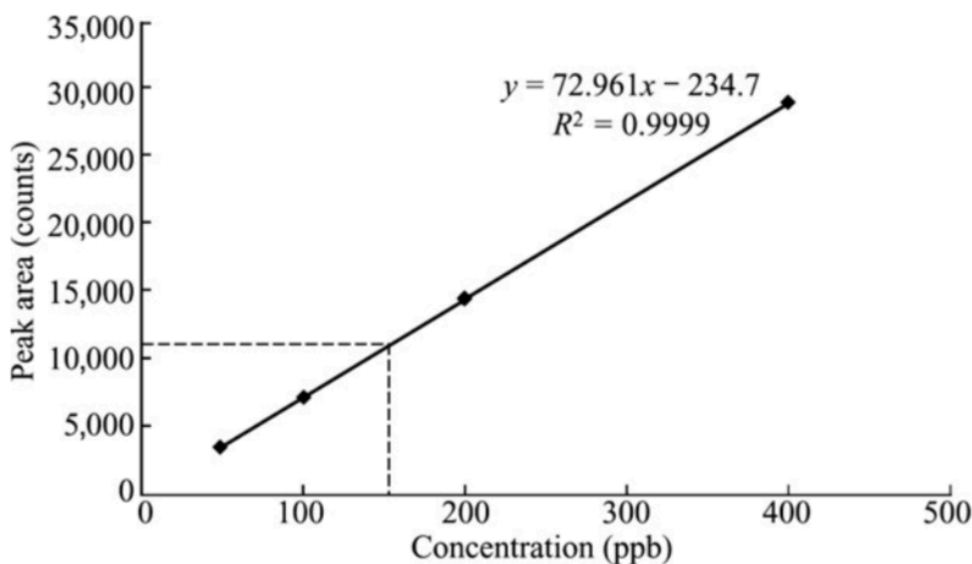
Obrázek 13: SPME vlákno

## 2.5 Kalibrace SPME pro kvantitativní analýzy

Metoda SPME není oproti tradičním (LLE, SPE) způsobům extrakce exhaustní a získává se pouze malá část analytů z měřené matrice. Oproti vyčerpávacím metodám lze lépe sledovat chemické změny a získávat přesnější informace o zkoumaném vzorku, avšak za potřeby citlivé kalibrace pro kvantitativní analýzu. Existuje mnoho druhů kalibrací pro SPME, avšak pro cíle této bakalářské práce stačí podrobněji definovat jen tradiční kalibrační metody pro kvantifikaci, jež jsou vhodné pro laboratorní analýzy. Do těchto metod patří externí kalibrace, metoda standardního přídatku a interní standardizace (Pawliszyn 2012, s. 144-145).

### 2.5.1 Metoda externí kalibrace

Metoda externí kalibrace je hojně využívaná pro environmentální kvantitativní analýzu. Pro objasnění vztahů mezi naměřenými signály a cílovými koncentracemi měřených analytů se využívá několika kalibračních roztoků se známými, ale odlišnými koncentracemi, které jsou měřeny za stejných podmínek. Výsledkem je kalibrační křivka. Na základě její směrnice lze stanovit koncentraci měřeného neznámého vzorku (Pawliszyn 2012, s. 145-146).

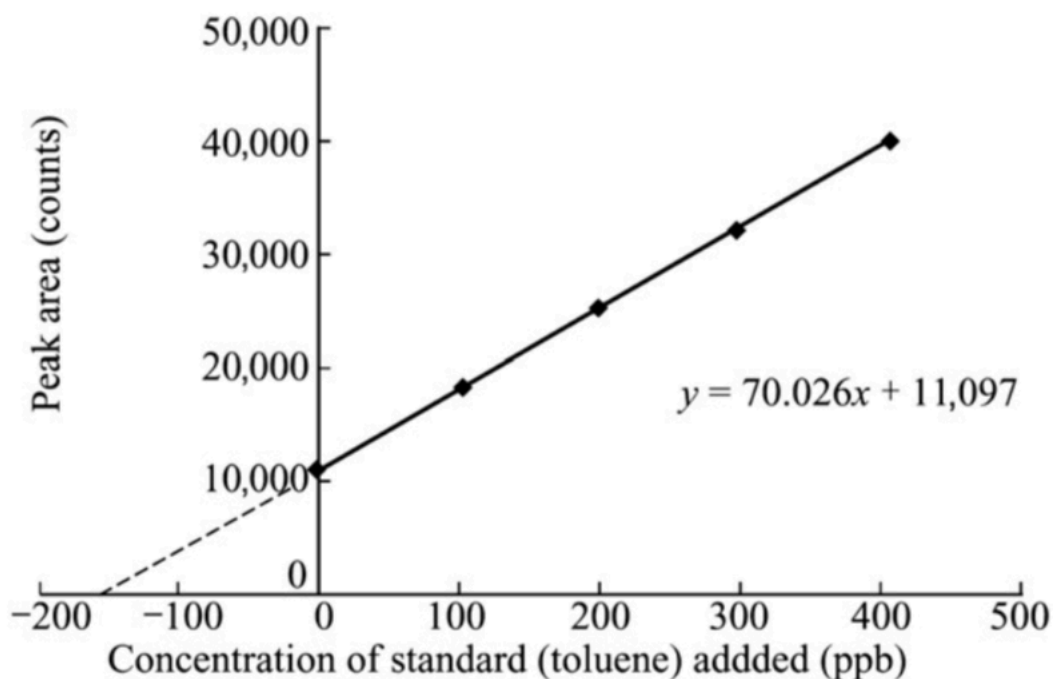


Obrázek 14: Metoda externí kalibrace pro kapalnou roztoku toluenu (Pawliszyn 2012, s. 145)

### 2.5.2 Metoda standardního přídatku

Metoda standardního přídatku spočívá v dávkování známých množství cílového analytu ke stanovované matrici vzorku s neznámým obsahem zkoumané látky.

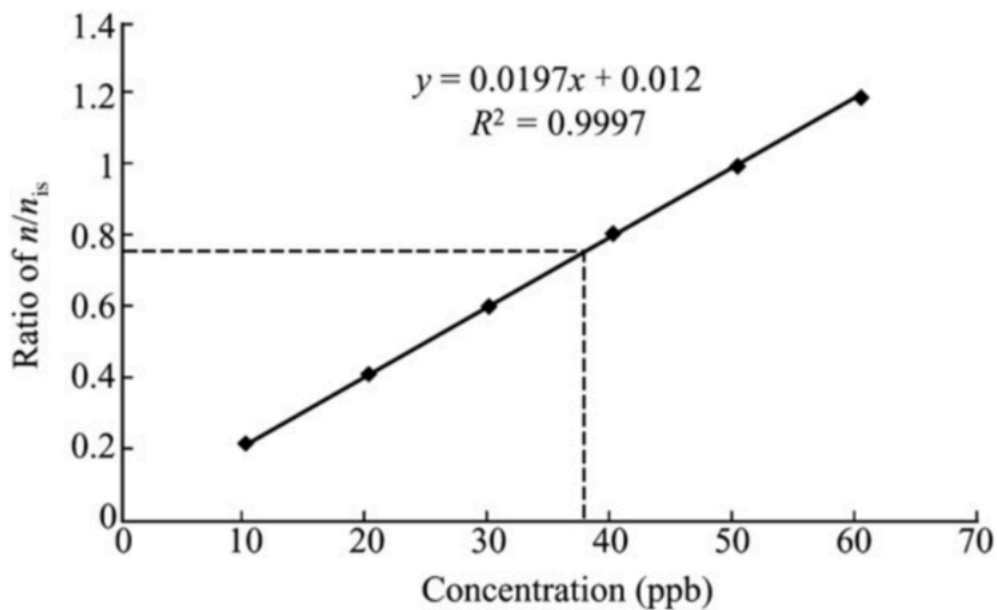
Porovnáním změřených výsledků původní matrice a vzorku se známým přídatkem lze zjistit koncentraci analytu v neznámém vzorku. Ke zvýšení přesnosti metody je doporučeno měřit nejméně 3 vzorky s přidávanými standardy o různých koncentracích ve třech sadách. V praxi to má za následek velké množství vzorků a metoda se stává časově náročnou (Pawliszyn 2012, s. 146-147).



Obrázek 15: Metoda standardního přídatku pro kapalné roztoky toluenu (Pawliszyn 2012, s. 147)

### 2.5.3 Metoda interního standardu

Metoda interního standardu využívá látky s podobnými vlastnosti, jako mají analyty, které ale musí být dostatečně odlišné, aby došlo ke správnému vyhodnocení při chromatografické separaci. Tyto látky jsou přidávány k analyzovaným vzorkům a kalibračním roztokům. Výsledkem je kalibrační křivka, která vyjadřuje poměr plochy píku měřených látek a vzorků s odlišnými koncentracemi analytu se stejným množstvím interního standardu (Pawliszyn 2012, s. 147-148).

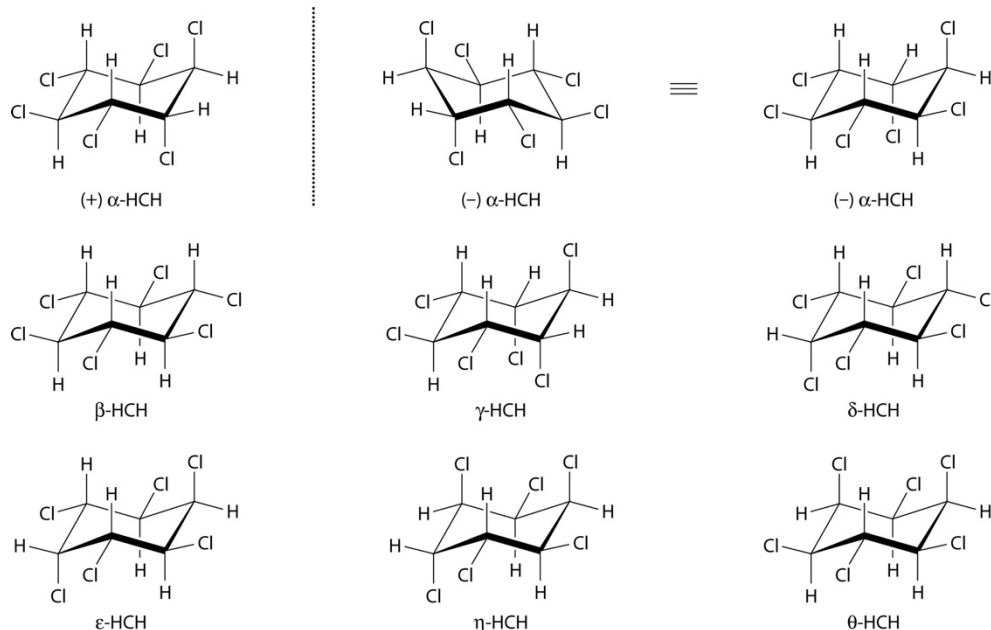


Obrázek 16: Kalibrace metodou interního standardu (Pawliszyn 2012, s. 148)

## 2.6 Hexachlorcyklohexany (HCH)

Hexachlorcyklohexany jsou uměle vyrobené chlorované uhlovodíky, které se nacházejí v několika izomerních strukturách. Stabilní formy těchto polutantů jsou jen konformace alfa- $\alpha$ , beta- $\beta$ , gamma- $\gamma$  (Lindan), delta- $\delta$  a epsilon- $\epsilon$ , které mají toxické účinky na živé organismy (Ilyina 2007, s. 31).

Jednotlivé izomery se liší pozicí atomů vodíků a chlórů ve struktuře cyklohexanu. Izomer  $\alpha$ -HCH se nachází ve 2 enantiomerních konformacích, které se značí + a - (Lal et al. 2010, s. 58-59).



Obrázek 17: Struktury jednotlivých izomerů a dvou enantiomerů  $\alpha$ -HCH (Lal et al. 2010, s. 59)

Technické HCH bylo vyráběno fotochemickou chlorací benzenu za působení UV záření. Touto reakcí vznikla směs prvních pěti stabilních izomerních struktur, kde byla nejvíce zastoupená modifikace alfa (60 až 70 %). Lindan, který má z této pětky největší insekticidní vlastnosti, zde byl obsažen v relativně malém množství (přibližně 10 až 12 %) a lze jej ze směsi izolovat. V rozvojových zemích se technické HCH používalo jako levná a účinná látka k hubení škůdců (Lal et al. 2010, 58-59).

Technické HCH bylo zakázáno přibližně v polovině 20. století a bylo povoleno jen použití Lindanu v lesnictví. Byla mu také udělena zvláštní výjimka pro farmaceutické účely na ochranu lidského zdraví k hubení vši a svrabu (Bláha et al. 2017).

### 2.6.1 Lindan (Gamma-Hexachlorcyklohexan)

Lindan je bílá těkavá krystalická látka, vyznačující se specifickým zápachem, který připomíná plíseň (EPA 2000).

Lindan se získával v čistotě až 99 % frakční krystalizací technického HCH. Rychlost šíření v prostředí je oproti jiným POPs výrazně vyšší z důvodu dobré rozpustnosti ve vodě a větší tenzi par. Z hlediska použití měl oproti ostatním stabilním izomerům nejsilnější insekticidní vlastnosti, tudíž byl hojně využíván v zemědělství, lesnictví a jako prostředek pro hubení zvířecích i lidských parazitů (Adamec et al. 2006, P1-2).

Perzistentní organické polutanty jsou ošetřeny hned několika různými smlouvami. Poslední takovou je Stockholmská úmluva z roku 2001, která určuje rámec zacházení s polutanty pro signatářské státy.

### **2.6.2 Stockholmská úmluva o perzistentních organických polutantech v ČR**

Stockholmská úmluva o perzistentních organických polutantech byla ujednána v květnu 2001 pod patronací Programu OSN pro životní prostředí a vešla v platnost v roce 2004. Od této chvíle se Česká republika zavázala k plnění závazků, které tento dokument stanovuje. Úmluva si klade za cíl odstranit výrobu, použití, import a export v dokumentu uvedených perzistentních organických polutantů (POPs). To by mělo vést k celkové předběžné opatrnosti, bezpečnému nakládání, následnému zneškodnění i nezáměrně vyrobených POPs. Jako organické polutanty jsou označovány látky, mající nepříznivé účinky na faunu a floru, které se navíc vyskytují v prostředí velmi dlouhou dobu, jelikož se hromadí v živých organismech a na základě potravních řetězců se mohou šířit na i velké vzdálenosti. Nejčastěji jsou to uměle vytvořené látky využívané jako pesticidy a průmyslové chemikálie. Dále mohou vznikat jako vedlejší látky chemických výrob a spalovacích procesů. Česká republika se zavázala k plnění závazků, které realizuje prostřednictvím národního implementačního plánu (NIP) za pomoci Národního centra pro toxické látky, jehož meziresortní rada vyhodnocuje a navrhuje aktualizace a další kroky (MZP 2018).

### **2.6.3 Národní implementační plán Stockholmské úmluvy o perzistentních organických polutantech v České republice (NIP)**

NIP je strategický dokument, který je pravidelně aktualizován a slouží ke zhodnocení situace na národní úrovni pro vybrané chemické látky v daném časovém období. Vyhodnocuje stávající akční plány České republiky, slouží k úpravě a zavádění nových postupů při získávání informací pro řešení situací spojených s výskytem, použitím a odstraňováním POPs, které se nacházejí ve Stockholmské úmluvě nebo v její aktualizaci. Prioritou je co nejefektivnější a nejrychlejší odstranění negativních vlivů POPs na prostředí a lidské zdraví (Bláha et al. 2017, s. 7).

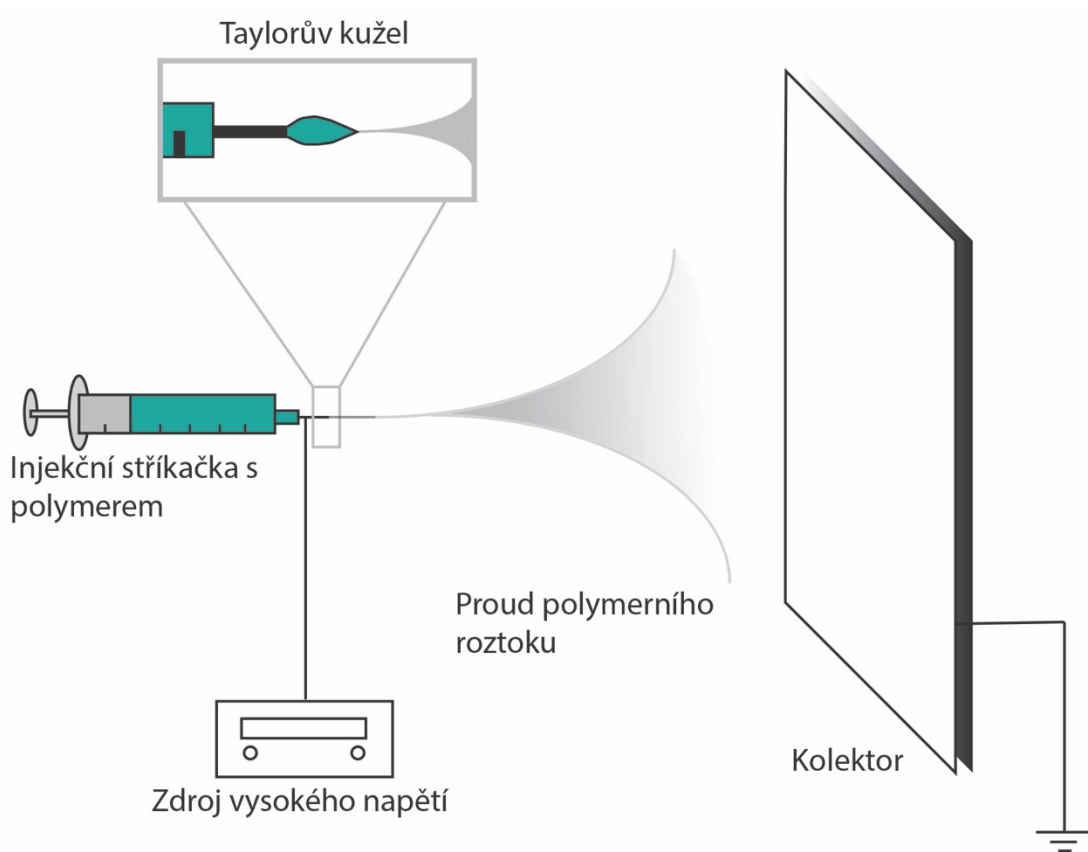


## 2.7 Lokalita u lomu Hájek

Lom u obce Hájek se nachází několik kilometrů severně od Karlových Varů a byl využíván od roku 1965 až do roku 1971. Těžil se zde postupně uran, čedič a kaolin. V letech 1966 až 1968 byla výsypka lomu kontaminována několika tunami balastních izomerů a chlorovaných benzenů společností Spolana Neratovice. Odpad byl do výsypky navážen nesystematicky. Až polovina kontaminantů byla do prostředí ukládána bez nádob, které by zamezily úniku do okolí. Zbylá část byla uložena v plechových a kartonových sudech. Sesuv půdy v roce 1977 způsobil odkrytí a poškození nádob s odpady. Důsledkem toho došlo ke kontaminaci podzemních vod, která polutanty transportovala do okolí (Bartoň 2015). Studie (Antoš V., Hrabák P., Macháčková J., Šupíková I., Polách L., Černík M., Kvapil P., Akumulace hexachlorocyklohexanů v biomase *Alnus glutinosa*) prokázala migraci HCH z podzemní vody do biomasy dřevin na lokalitě.

## 2.8 Elektrostatické zvlákňování polymerů

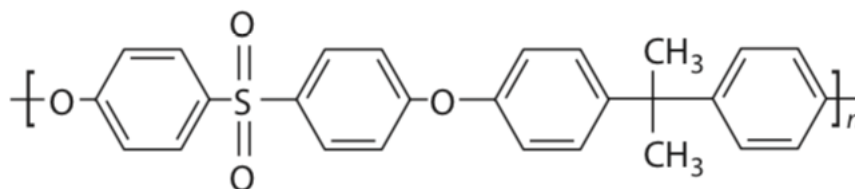
Elektrostatickým zvlákňováním polymerních roztoků vznikají submikronová vlákna. Pokud je průměr vláken do 1000 nanometrů, jsou obecně nazývána jako nanovlákna. Vyznačují se řadou výjimečných vlastností, díky kterým je jejich použití součástí mnoha oborů. Electrospinning využívá vysokého napětí, které je přiváděno na trysku stříkačky, ze které definovanou rychlostí vytéká polymer. Naproti trysce je umístěn uzemněný kolektor, který po vypaření rozpouštědla zachytává vytvořená submikronová vlákna. Samotná vlákna se tvoří díky tzv. Taylorovu kuželu, který je vytvořen na špičce kapiláry následkem překonání povrchového napětí kapaliny silou elektrického pole. Proud nabitě kapaliny vycházející se špičky Taylorova kužele je zapříčiněn dosažením kritické hodnoty v důsledku zvětšování elektrického pole. Po odpaření rozpouštědla je vytvořeno nabitě vlákno polymeru, které je zachyceno kolektorem (Růžičková et al. 2006, s. 4-6).



Obrázek 18: Schéma elektrostatického zvlákňování

## 2.9 Polysulfon (PSU)

Polysulfon se řadí mezi amorfní transparentní termoplasty, které se dobře rozpouští v nízko polárních rozpouštědlech. Vyznačuje se pevností a chemickou stabilitou i za vysokých teplot. Skelný přechod polysulfonu se pohybuje mezi 180 a 250 °C. Používá se především k výrobě spotřebičů, elektroniky a automobilových dílů (Troughton 2008).



Obrázek 19: Opakující se jednotka PSU (Ioan 2015, s. 5)

### 3 Praktická část

Tato práce se zabývá optimalizací metody mikroextrakce tuhou fází pro stanovení perzistentních polutantů z pevných matric. Bakalářská práce navazuje na výzkum mapování kontaminace lokality ze vzorků získaných z biomasy náletových a rychle rostoucích dřevin, sloužících jako indikátor potencionálních ohnisek s uloženým odpadem. Obsahem praktické části jsou série testů, jež dokumentují různé podmínky, které mohou analýzy polutantů (extrahovaných metodou SPME) ovlivňovat. Nejdůležitějším bodem je porovnání výsledků 2 druhů extrakcí (komerční SPME, lab-made SPME) na stejných matricích.

#### 3.1 Metodika

Testy probíhaly na dvou typech dřevin. Prvním typem byla referenční olše, která neobsahovala žádné množství zkoumaných analytů. Druhým typem byla kontaminovaná olše z lokality lomu Hájek. Do všech vzorků byl před měřením přidán interní standard  $\gamma$ -HCH D<sub>6</sub>. K referenčním vzorkům byl navíc dávkován kalibrační standard HCH, který obsahoval jednotlivé izomery, jejichž chování bylo sledováno v následujících testech.

Sběr vzorků byl realizován dvěma rozdílnými způsoby. Prvním způsobem byly vzorky vrtány elektrickou vrtačkou. Vznikala tak jemnější matrice ve formě pilin. Druhou variantou se vzorky připravovaly přímočarou pilou. Vznikala hrubější matrice ve formě třísek a hoblin (dále již jen hobliny). Matrice byla odebírána rovnoměrně a byla vždy důkladně promíchána, aby testy probíhaly na co nejhomogennější hmotě. Samotné vlivy jednotlivých typů matric byly srovnány v následujících testech.

K analýzám byly využívány 20 ml vialky opatřené magnetickým víčkem s PTFE septem. Standardy byly dávkovány stříkačkami Hamilton. K analýzám HCH byl použit plynový chromatograf Thermo Trace 1310 s hmotnostním detektorem Thermo TSQ 8000 s trojitým kvadrupólem. Připravené vzorky byly automaticky přenášeny autosamplerem PAL RTC k samotné analýze. Plynový chromatograf obsahoval chromatografickou kolonou DB-5MS s délkou 30 m, šířkou 0,25 mm a tloušťkou filmu 0,25  $\mu$ m. Nosným plynem bylo helium 5.0 s nastaveným průtokem kolonou 1 ml/min. Jako kolizní plyn byl použit argon 4.8. Teplota transfer line byla nastavena na 250 °C a teplota iontového zdroje na 200 °C.

Pro extrakci byly zvoleny 3 odlišné metody (LLE, komerční SPME, lab-made SPME). Vzorky pro kapalnou extrakci byly extrahovány směsí acetonu a hexanu

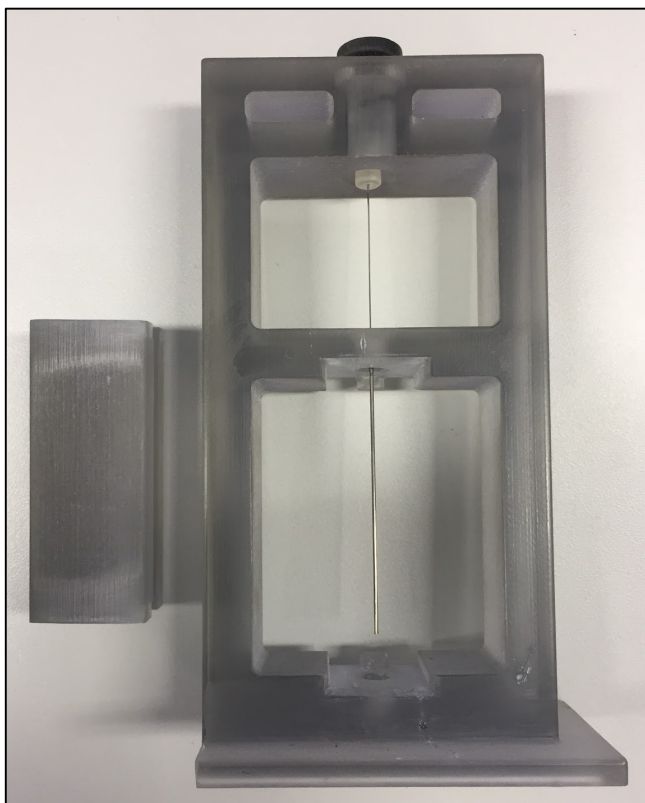
v poměru 1:1. Pro komerční extrakci bylo vybráno 100  $\mu\text{m}$  PDMS vlákno od firmy Supelco. Pro lab-made SPME extrakci byla vyrobena vlastní SPME vlákna potažená polysulfonovými nanovlákný. U biomasy byla pro potřeby měření stanovena sušina při 105 °C (po dobu 3 hodin). U hoblin byla sušina stanovena na 74 % původní hmotnosti a u pilin 50 %.

### 3.2 Chemikálie

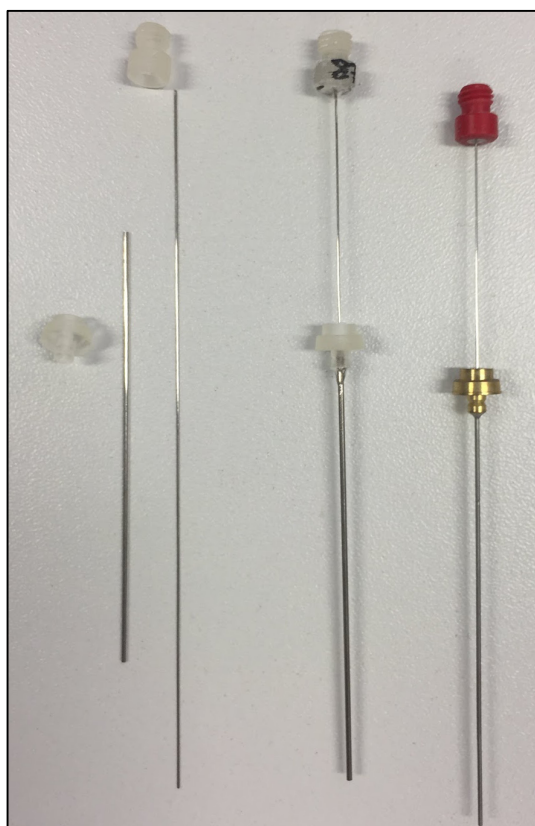
K provedeným testům byly využity následující chemikálie. Pro rozpuštění polysulfonu bylo použito DMF. Pro stanovení hmotnosti vláken na nosičích byla použita směs chemických látek v následujícím poměru: DMF 80 %, THF 15 % a  $\text{CS}_2$  5 % (zakoupené od firmy Penta). Pro LLE byla použita směs aceton-hexan v poměru 1:1 (zakoupené od firmy Penta). Následně bylo také využito kalibračního standardu HCH – Mix 5 (100  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  v acetonu, Neochema) a interního standardu  $\gamma$ -HCH  $\text{D}_6$  (100  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  v cyklohexanu, Dr. Ehrenstorfer) pro kapalnou a SPME extrakci. Výchozí polymer polysulfon pro zvlákňování byl zakoupen u Sigmy-Aldrich (CAS: 25135-51-7). Jako nosný plyn bylo použito helium 5.0 a argon 4.8 (Linde Gas).

### 3.3 Kompletace lab-made SPME vláken

V úvodu praktické části byla provedena kompletace lab-made SPME vláken. Jednotlivé součásti vláken byly vyrobeny ve spolupráci se strojní fakultou. Vlákno se skládá z duté nerezové ocelové trubičky, nerezového ocelového pístu, těsnění a dvou součástí vyrobených 3D tiskem (RDG810 3D-printer). Pro účely sestavení z jednotlivých komponent byl využit přípravek, který kompletaci výrazně zjednodušil. Části SPME vlákna byly slepeny lepidlem, určeným pro modelářské činnosti. Píst výsledného výrobku byl posléze potažen vlákný polymeru, získanými elektrostatickým zvlákňováním na jehle za působení vysokého napětí.



Obrázek 20: Přípravek na zjednodušení kompletace SPME vláken



Obrázek 21: Zleva: jednotlivé součásti lab-made SPME vlákna, sestavené lab-made SPME vlákno, komerční SPME vlákno

### 3.4 Elektrostatické zvlákňování a výběr polymeru

V první řadě byla provedena rešerše vědeckých článků, zabývajících se zvlákňováním polymerů vhodných pro účely analytických měření. Z důvodu vysokých teplot v průběhu analýzy (během nástřiku do GC), se výběr polymeru zúžil primárně na termoplasty. Díky dobrým mechanickým vlastnostem a tepelné i chemické stabilitě, byl pro účely této práce vybrán polysulfon (PSU).

PSU byl zakoupen u společnosti Sigma-Aldrich ve dvou variantách, lišících se svými molekulovými hmotnostmi (16 a 22). Následně byla provedena série testů, při kterých byl rozpuštěn v dimethylformamidu (DMF) v několika koncentracích podle následující tabulky.

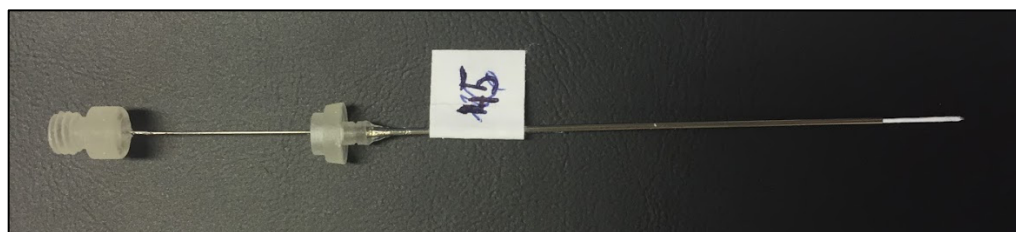
Tabulka 2: Příprava polymerů pro elektrostatické zvlákňování

	hmotnost [g]	DMF [ml]	%		hmotnost [g]	DMF [ml]	%
PSU-22A	1	3,5	23	PSU-16A	1	3,5	23
PSU-22B	1	4,2	20	PSU-16B	1	4,2	20
PSU-22C	1	4,9	18	PSU-16C	1	4,9	18
PSU-22D	1	6,0	15	PSU-16D	1	6,0	15
PSU-22E	1	9,0	10	PSU-16E	1	9,0	10

Pro elektrostatické zvlákňování byl vybrán roztok PSU-22 o koncentraci 18 %. Roztoky byly zvlákňeny za následujících podmínek.

Tabulka 3: Podmínky elektrostatického zvlákňování

Průtok [ml·h <sup>-1</sup> ]	Vzdálenost kolektoru [cm]	Napětí [kV]	průměr jehly [mm]	Vlhkost vzduchu [%]	teplota [°C]
3	20	24	3	26,7	23



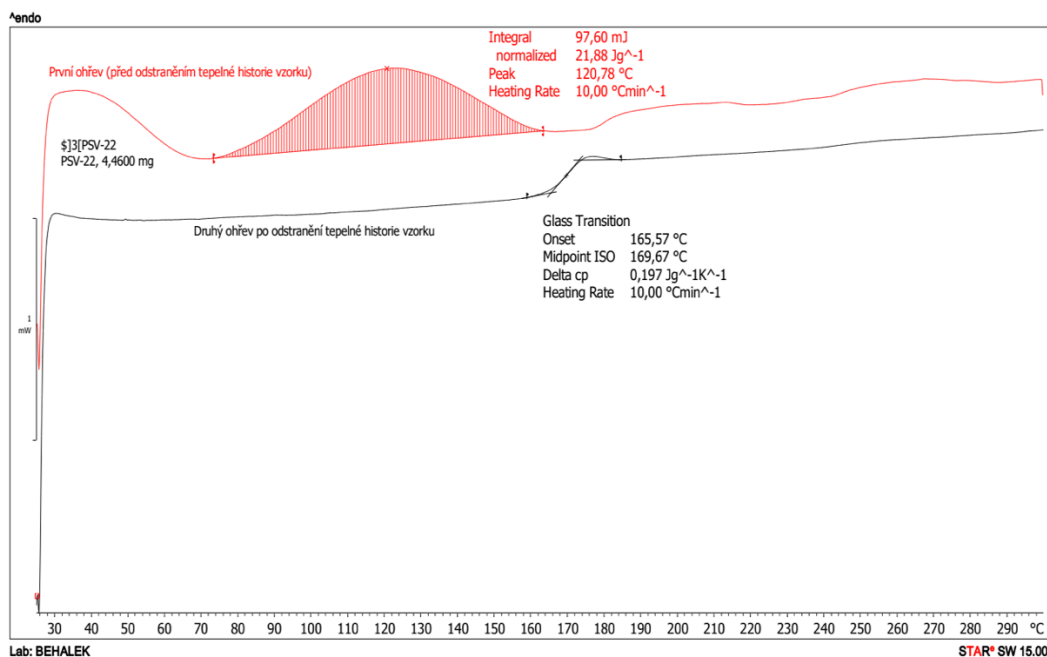
Obrázek 22: Lab-made vlákno potažené polysulfonovými nanovláknky

### 3.5 Charakterizace polysulfonu a polysulfonových nanovláken

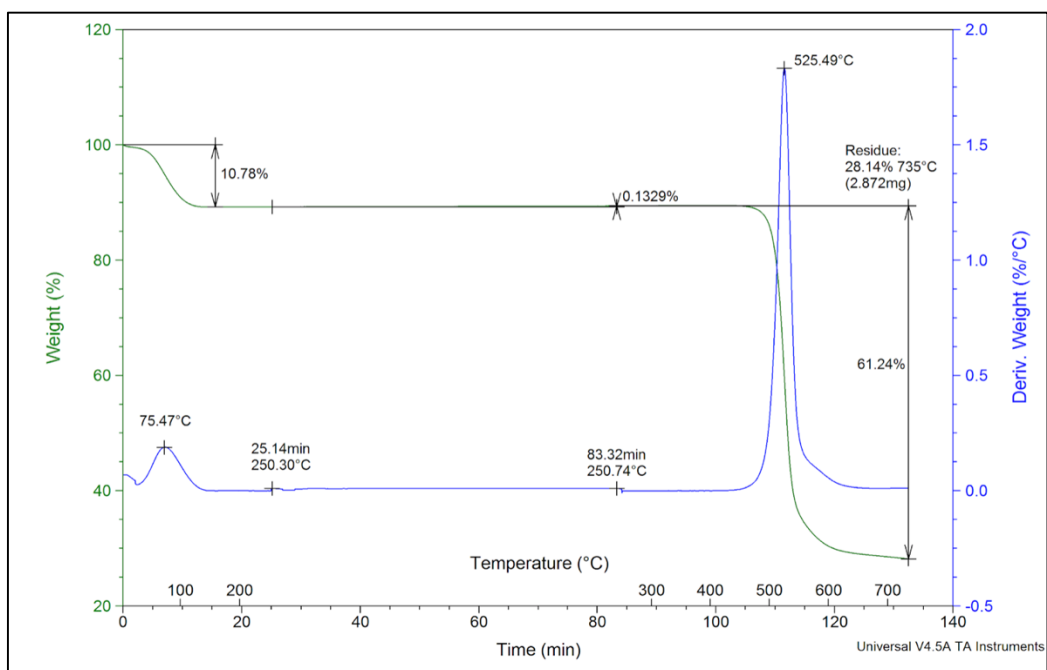
K určení vlastností polymeru a připravených nanovláčkových struktur byly provedeny následující analýzy.

#### 3.5.1 DSC, TGA, BET

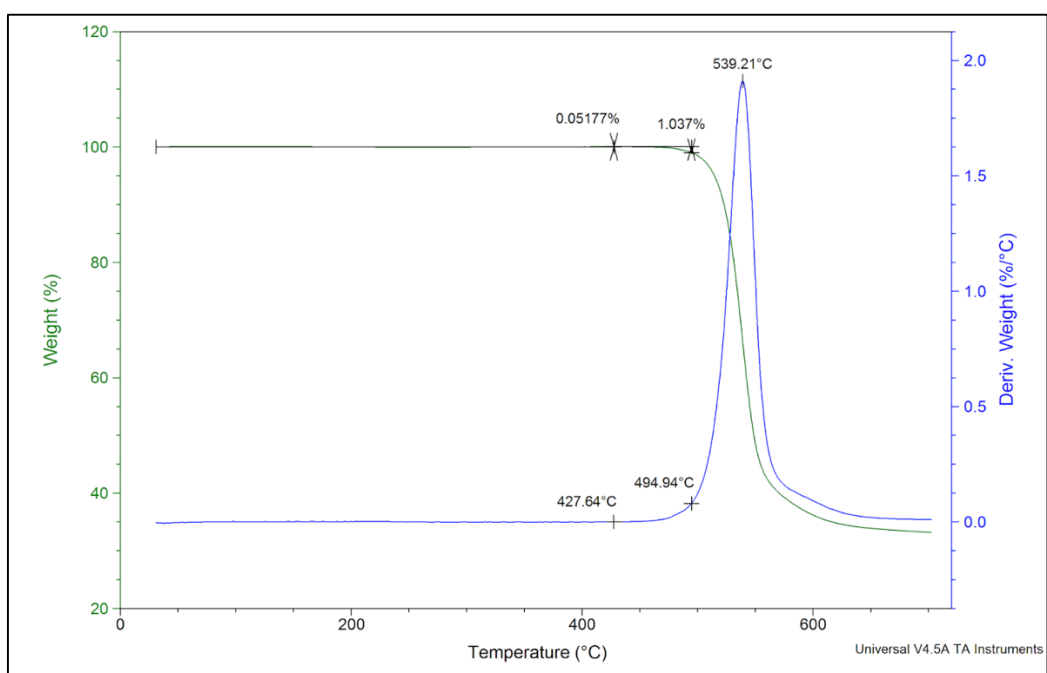
K určení tepelných vlastností byla polymerní vlákna charakterizována diferenciální skenovací kalorimetrií. Teplota skelného přechodu byla stanovena na 169,67 °C. Následně byla provedena termogravimetrická analýza ke zjištění teplotní odolnosti materiálu. U vláken byl zaznamenán úbytek váhy přibližně 10 % při ohřevu v rozmezí 50 až 100 °C nejspíše v důsledku zbytku rozpouštědla po zvláknění. Vlákna dále teplotně degradovala až při teplotě nad 450 °C. Samotný polymer byl stabilní až do 427,64 °C. Měrný povrch polysulfonových vláken je 5 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>.



Obrázek 23: DSC záznam (fáze ohřevu)



Obrázek 24: Termogravimetrická analýza polysulfonových vláken

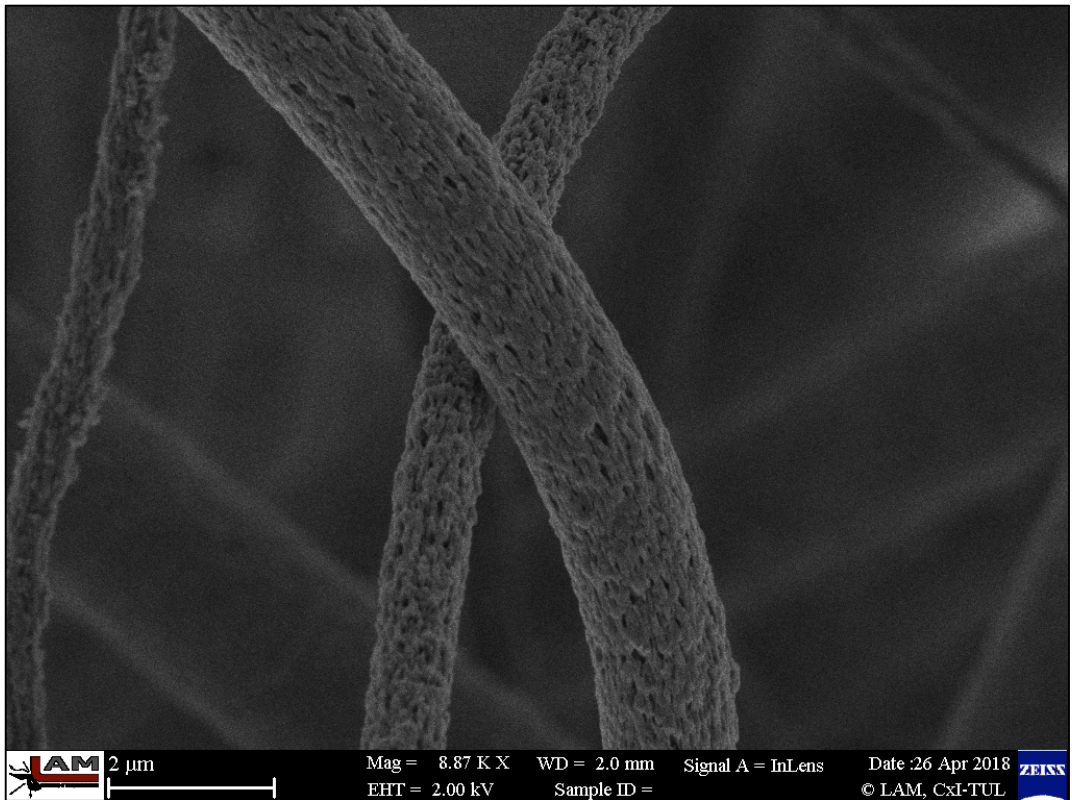


Obrázek 25: Termogravimetrická analýza polysulfonu

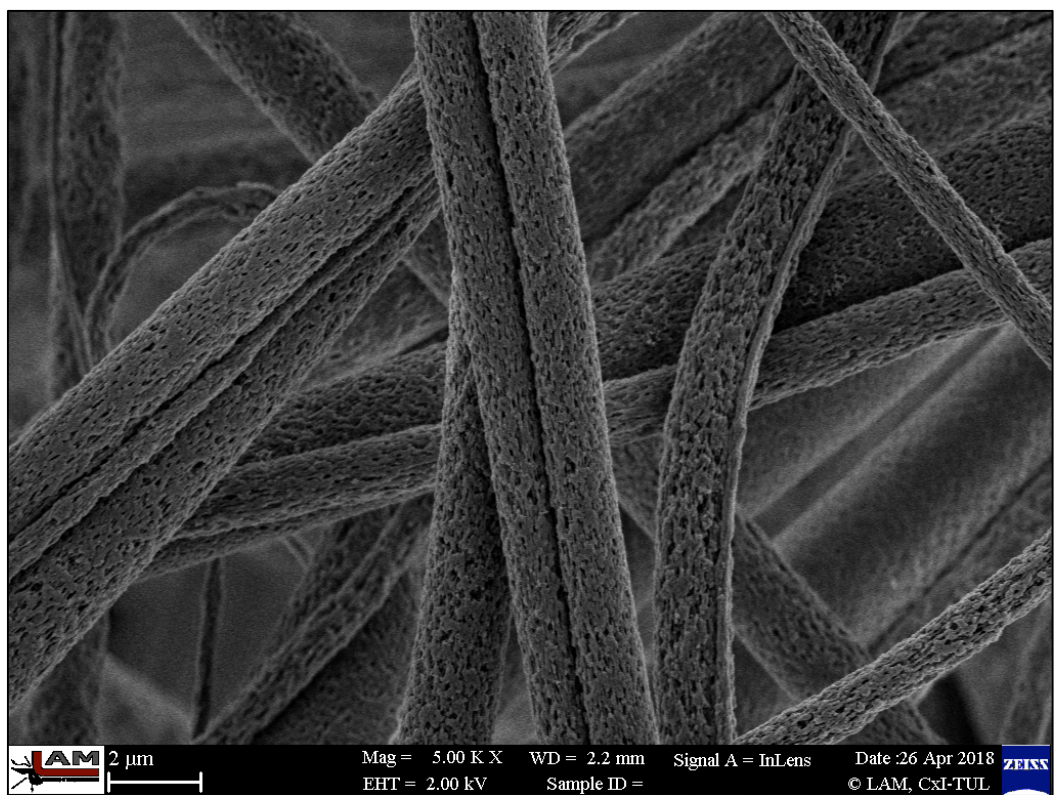
### 3.5.2 Elektronová mikroskopie

Pro stanovení průměru a k prozkoumání povrchu nanovláken byl využit elektronový mikroskop (UHR FE-SEM Carl Zeiss ULTRA Plus).

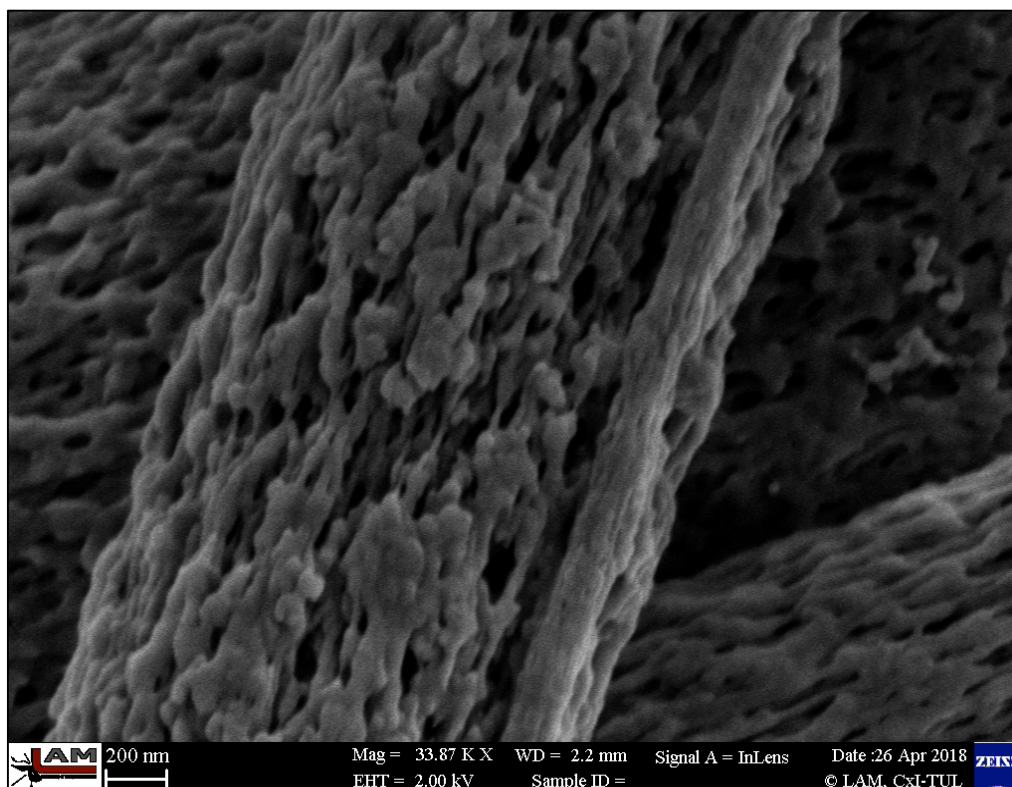




Obrázek 26: Snímek polysulfonových nanovláknenných struktur (SEM)



Obrázek 27: Snímek polysulfonových nanovláknenných struktur (SEM)



*Obrázek 28: Snímek povrchu polysulfonových nanovláknenných struktur (SEM)*

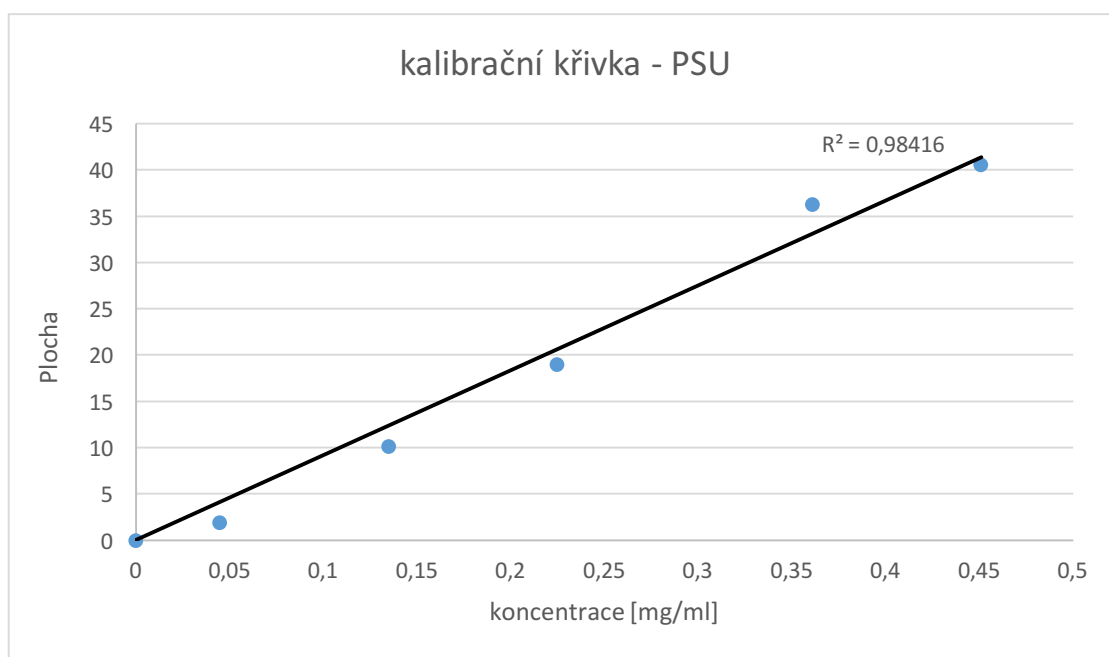
Z důvodu velké pevnosti a vysoké chemické odolnosti nedosahují polysulfonová vlákna ideálních rozměrů. Průměr polysulfonových nanovláken, připravených elektrostatickým zvlákňováním, se pohybuje okolo 1000 nm.

### **3.6 Kalibrace polysulfonu pro HPLC**

Stanovení hmotnosti polymerních nanovláken na jednom SPME vláknu pomocí vážení je problematické, jelikož jde o množství pod 0,1 mg, což je na hranici citlivosti používaných vah (Sartorius CPA225D-0CE – Sartorius Stedim). Pro stanovení navážky vláken na lab-made nosiči byla vytvořena nová metoda. Metoda je destruktivní a spočívá v rozpuštění PSU z SPME vlákna do směsi rozpouštědel a stanovení koncentrace PSU na HPLC s ELSD detekcí. Bylo připraveno 5 kalibračních bodů, na základě kterých byla sestavena kalibrační křivka. Kalibrační body byly připraveny na základě rozpuštění přesného množství polymeru ve směsi rozpouštědel (DMF, THF, CS<sub>2</sub>). Jednotlivé kalibrační úrovně byly připraveny podle následující tabulky.

Tabulka 4: Koncentrace jednotlivých kalibračních úrovní pro HPLC kalibraci PSU

	koncentrace [mg·ml <sup>-1</sup> ]
K1	0,045
K2	0,135
K3	0,225
K4	0,361
K5	0,451



Graf 1: Kalibrační křivka polysulfonu (PSU)

Bylo připraveno 10 lab-made SPME vláken potažených polysulfonovými nanovláčky. Konce vláken byly ponořeny do 1 ml směsi rozpouštědel (DMF, THF, CS<sub>2</sub>). Výsledný roztok byl filtrován pomocí stříkačky s teflonovým filtrem. Dále byly vzorky měřeny vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií a byla stanovena koncentrace polymeru, ze které byla poté vypočítána hmotnost. Průměrná hmotnost navážky je 52,5 µg.

## 4 Série testů (A až K)

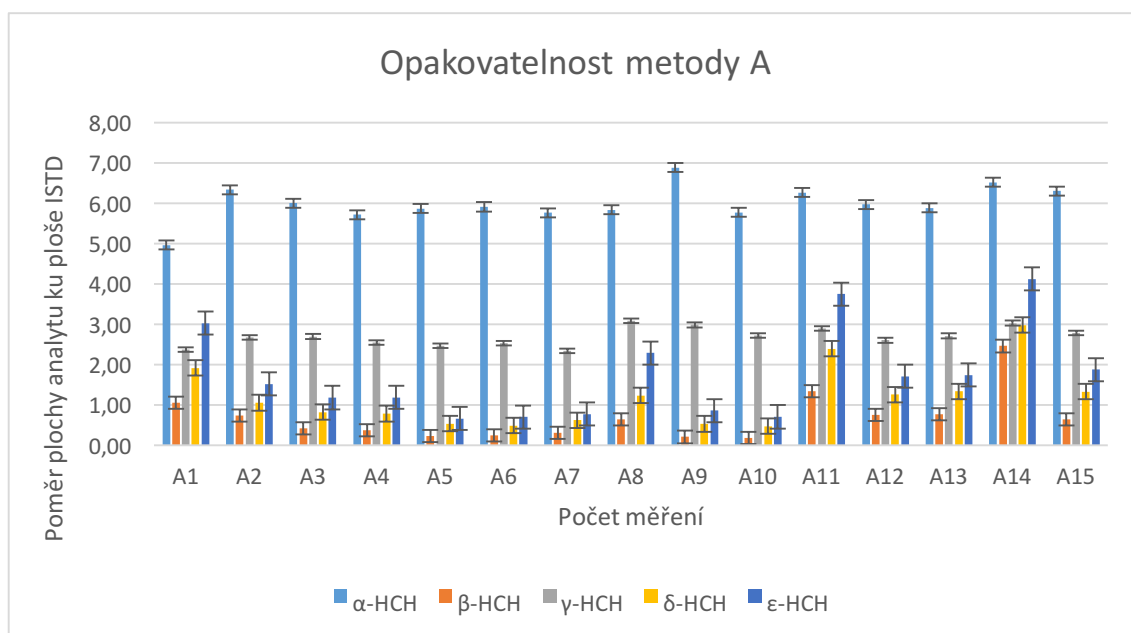
Následně byla vypracována série testů, které si kladly za cíl prozkoumat vlivy odlišných podmínek na výsledky měření. Pro přehlednost byl vytvořen následující přehled testů.

Tabulka 5: Přehled testů A-K

	Test	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Způsob GC nástřiku	Kapalný			✓								
	Komerční SPME	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓
	Lab-made SPME										✓	✓
Matrice	Voda						✓	✓	✓	✓		
	Referenční biomasa	✓	✓		✓	✓			✓	✓	✓	
	Kontaminovaná biomasa			✓								✓
Zrnitost biomasy	Hoblíny		✓	✓					✓	✓	✓	✓
	Piliny	✓			✓	✓			✓	✓		
Přídavek	0,225 g NaCl							✓		✓		
	4 ml odstáté vody	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓

### 4.1 Test A – opakovatelnost metody pro první typ matrice (piliny) na referenčních vzorcích

Aby byly výsledky všech měření relevantní, bylo potřeba stanovit opakovatelnost metody, díky které lze zjistit chybu přípravy vzorků a chybu měřící techniky. Pro tento test byly připraveny dvě sady s 15 identickými vzorky s 1 g pilin do kterých bylo dávkováno 10 µl ISTD pro SPME a 1 µl kalibračního standardu HCH. Následně byly přidány 4 ml odstáté vody. Sada A byla měřená ihned po přípravě a sada B 3 dny poté.

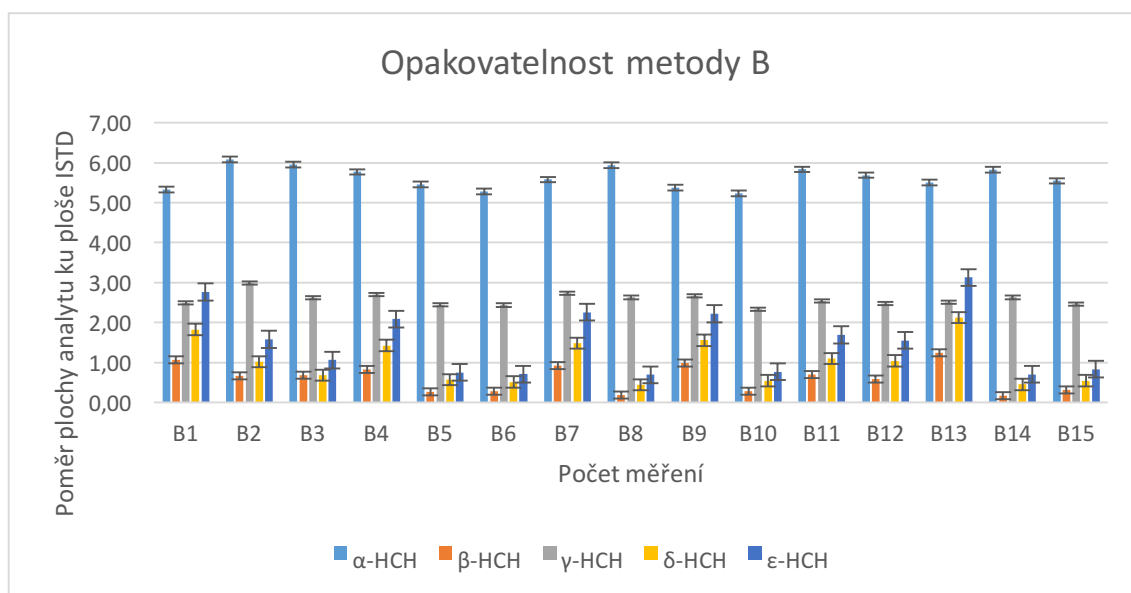


*Graf 2: Opakovatelnost metody sady A (s vyznačenou standardní chybou – dále již nebude uváděno)*

*Tabulka 6: Statistika opakovatelnosti metody pro sadu A*

	α-HCH	β-HCH	γ-HCH	δ-HCH	ε-HCH
Aritmetický průměr	6,00	0,69	2,70	1,18	1,74
Směrodatná odchylka	0,42	0,57	0,22	0,72	1,08
Variační koeficient [%]	7	83	8	61	62

Ze získaných hodnot byla vypočítána směrodatná odchylka a variační koeficient. Nejvyšší chybu měření a zároveň největší variabilitu vykazují izomery β-HCH, δ-HCH, ε-HCH. Naopak stabilní výsledky byly získány u izomerů α-HCH a γ-HCH.



Graf 3: Opakovatelnost metody B

Tabulka 7: Statistika opakovatelnosti metody pro sadu B

	α-HCH	β-HCH	γ-HCH	δ-HCH	ε-HCH
Aritmetický průměr	5,63	0,61	2,58	1,02	1,52
Směrodatná odchylka	0,26	0,34	0,15	0,53	0,79
Variační koeficient [%]	5	55	6	52	52

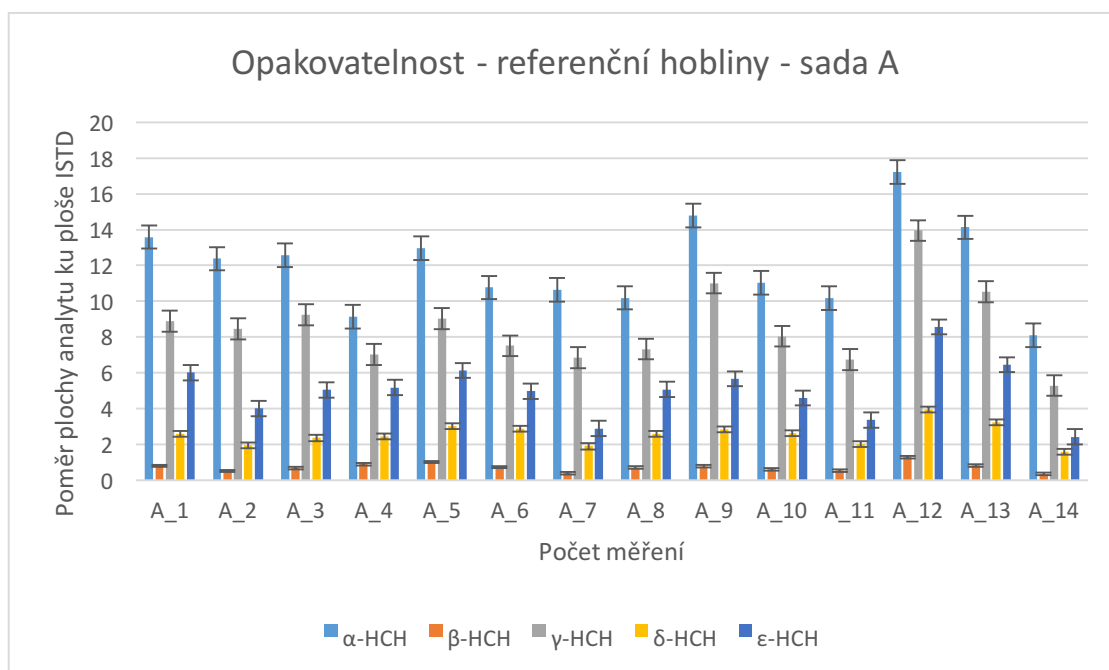
V jednom z následujících testů byl prokázán úbytek analytů u vzorků měřených po 3 dnech (Tabulka 15: Procentuální úbytek jednotlivých izomerů), který má vliv i na statistiku opakovatelnosti. Z těchto dat je patrné, že vlivem úbytku analytů ve vzorcích se zmenšila i směrodatná odchylka a variační koeficient. Nejvyšší chybu měření i variabilitu stále vykazují izomery β-HCH, δ-HCH, ε-HCH.

#### 4.2 Test B – opakovatelnost metody pro druhý typ matrice (hoblíny) na referenčních vzorcích

Byly vytvořeny 2 sady vzorků o 15 vialkách. Do všech byl navážen 1 g nekontaminovaných hoblin. Následně byly přidány 4 ml vody, 1 μl kalibračního standardu HCH a 10 μl ISTD pro SPME. Polovina vzorků byla změřena v den přípravy a zbytek po 3 dnech na třepače.

Tabulka 8: Opakovatelnost metody pro referenční hoblíny

	ISTD	HCH
Sada A	10	1
Sada B	10	1



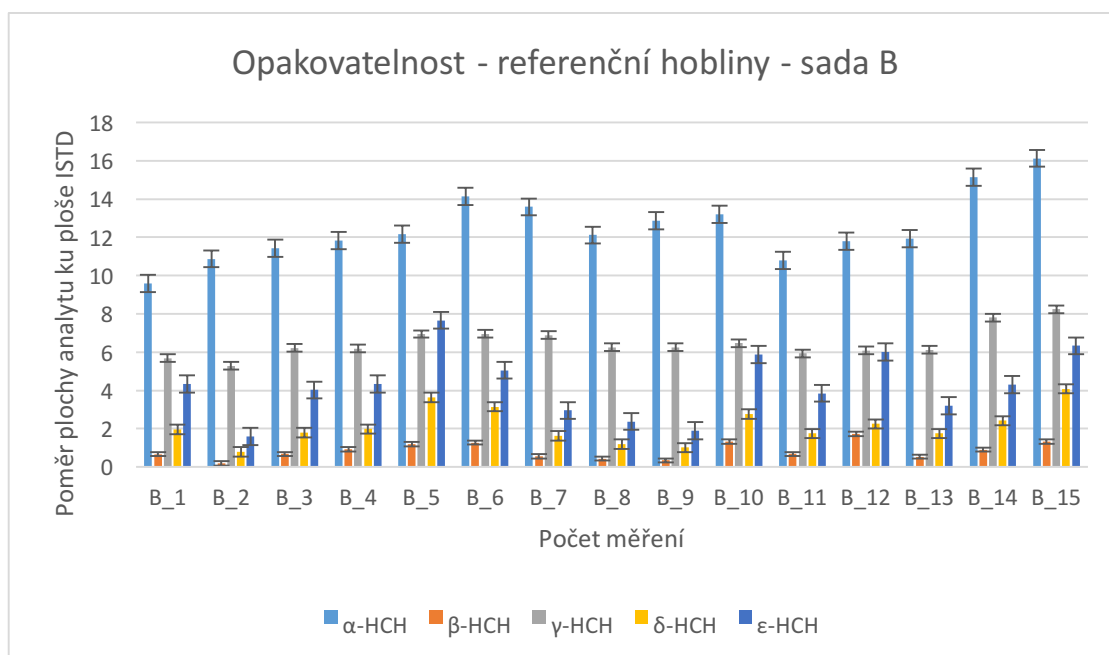
Graf 4: Opakovatelnost metody referenčních hoblín – sada A

Tabulka 9: Statistika opakovatelnosti metody referenčních hoblín u sady A

	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH
Aritmetický průměr	12,0	0,7	8,6	2,6	5,0
Směrodatná odchylka	2,36	0,24	2,10	0,57	1,52
Variační koeficient [%]	20	33	25	23	30

Byla stanovena opakovatelnost metody pro referenční hoblíny. Ze získaných hodnot byla vypočítána směrodatná odchylka a variační koeficient. Nejvyšší chybu měření vykazují izomery  $\alpha$ -HCH a  $\gamma$ -HCH z důvodu jejich vyšších koncentrací naměřených ve vzorcích. Nejnižší množství bylo naměřeno u izomeru  $\beta$ -HCH a  $\delta$ -HCH,

kteře vykazují také nejmenší směrodatnou odchylku. Variabilita hodnot se v tomto případě pohybuje mezi 20 a 33 procenty u všech izomerů.



Graf 5: Opakovatelnost metody referenčních hoblin – sada B

Tabulka 10: Statistika opakovatelnosti referenčních hoblin – sada B

	α-HCH	β-HCH	γ-HCH	δ-HCH	ε-HCH
Aritmetický průměr	12,5	0,9	6,5	2,1	4,3
Směrodatná odchylka	1,660	0,420	0,750	0,903	1,663
Variační koeficient [%]	13	49	12	42	39

Následně byla vypočítána statistika identických vzorků, které se měřily po 3 dnech. Oproti opakovatelnosti metody u pilin nebyl zaznamenán úbytek analytů. Lze tak předpokládat, že rozdílná zrnitost a metoda přípravy dřevní hmoty má vliv na stabilitu izomerů. Největší chybu měření vykazují izomery α-HCH a ε-HCH. Nejvyšší variabilitu hodnot vykazuje β-HCH.



### 4.3 Test C – opakovatelnost pro druhý typ matrice (hoblíny) na reálných vzorcích

Následně byl proveden test, pro stanovení opakovatelnosti metody pro druhý typ matrice (hoblíny) na reálných vzorcích získaných z lokality lomu Hájek. Do 20 vialek byl navážen 1 g kontaminované reálné matrice. Polovina vialek byla extrahována metodou LLE. Ke zbylým 10 vialkám byly přidány 4 ml vody a 10  $\mu$ l ISTD pro SPME. Jelikož byly sady měřené jinou metodou, nelze porovnávat výsledné hodnoty, ale lze porovnat statistiky, jež byly pro každou sadu vypočítány.

Tabulka 11: Statistika pro sadu extrahovanou směsí rozpouštědel

	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH
Aritmetický průměr	0,27	2,45	0,11	0,48	4,20
Směrodatná odchylka	0,03	0,24	0,02	0,06	0,28
Variační koeficient [%]	10,5	9,8	15,3	12,0	6,7

Tabulka 12: Statistika pro sadu extrahovanou SPME vláknem

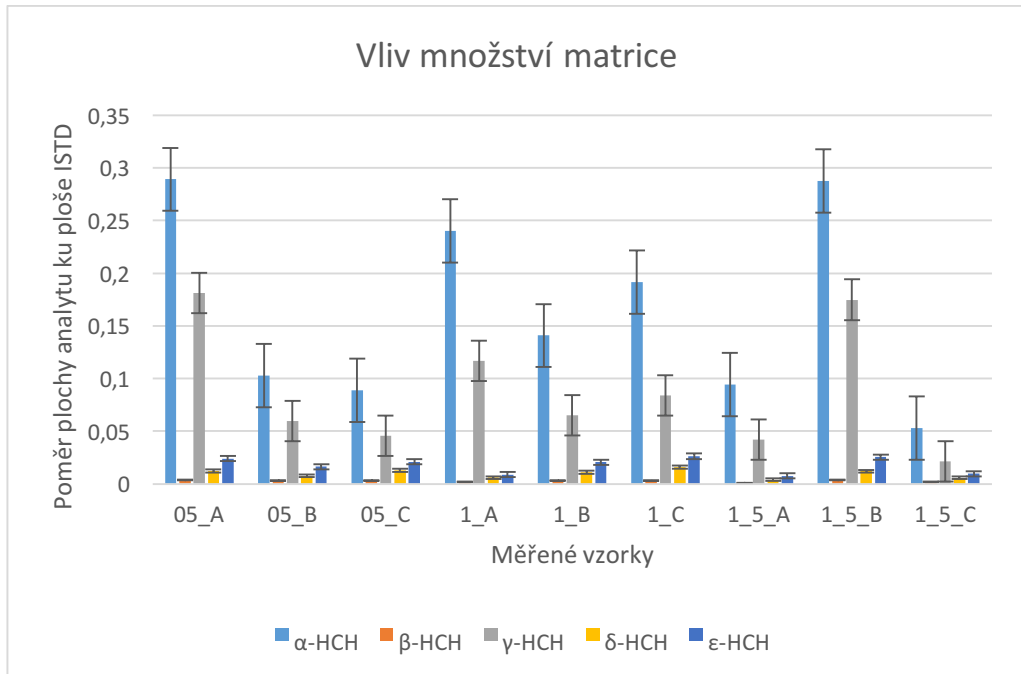
	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH
Aritmetický průměr	1,35	0,23	0,31	0,40	3,60
Směrodatná odchylka	0,28	0,06	0,07	0,08	0,91
Variační koeficient [%]	20,9	24,4	23,7	20,4	25,4

Z vypracované statistiky je patrné, že metoda LLE je zatížena menší chybou. Variabilita je oproti SPME metodě nižší. Chyba měření a variabilita hodnot u SPME je i tak stále relativně nízká. Díky pohodlnější a rychlejší laboratorní přípravě, která nezahrnuje práci s rozpouštědly, je SPME pro analýzy velkého množství vzorků vhodnější.

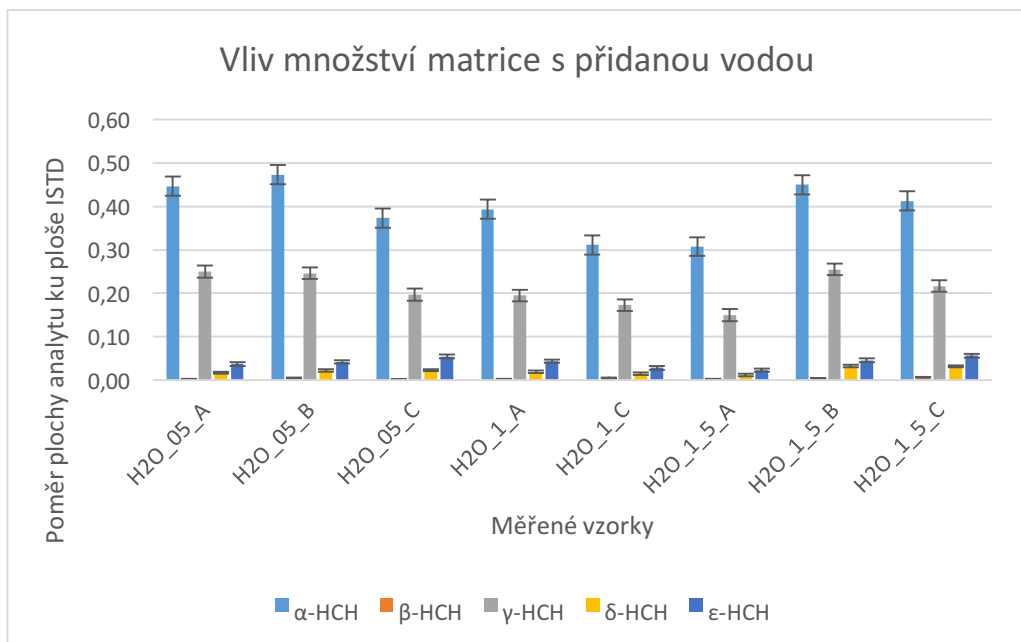
### 4.4 Test D – vliv různého množství matrice a přídavku odstáté vody

V následujícím testu byl prozkoumán vliv odlišného množství matrice a přídavku odstáté vody na výsledky analýzy. Byly připraveny 3 sady vzorků po 3 vialkách s identickým množstvím dřevin. Jednotlivé sady obsahovaly 0,5; 1; a 1,5 g matrice. Do

všech vzorků byl přidán 1  $\mu$ l kalibračního standardu HCH a 10  $\mu$ l ISTD pro SPME. Dále byl proveden identický test s tím rozdílem, že všechny vzorky obsahovaly navíc 4 ml vody.



Graf 6: Ověření vlivu množství matrice na výsledky analýzy



Graf 7: Ověření vlivu množství matrice s přídavkem vody

Z výsledku tohoto testu bylo zjištěno, že přídavek vody výrazně stabilizuje výsledné hodnoty. Vzorky bez přídavku vody velice kolísají kvůli nehomogennímu

obsahu vody v matrici. Přidáním 4 ml vody se však tento rozdíl vyrovná. Ze statistiky grafu získaného ze vzorků s přidáním vody lze dále určit, jak velký je vliv odlišného množství matrice na výsledky analýzy.

*Tabulka 13: Statistika vlivu matrice s přidáním vody*

		$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH
0,5	Aritmetický průměr	0,43	0,00	0,23	0,02	0,04
	Směrodatná odchylka	0,04	0,00	0,02	0,00	0,01
	Variační koeficient [%]	10	40	10	12	16
1	Aritmetický průměr	0,35	0,00	0,18	0,02	0,04
	Směrodatná odchylka	0,04	0,00	0,01	0,00	0,01
	Variační koeficient	0,12	0,33	0,06	0,11	0,21
1,5	Aritmetický průměr	0,39	0,00	0,21	0,03	0,04
	Směrodatná odchylka	0,06	0,00	0,04	0,01	0,01
	Variační koeficient [%]	15	38	21	38	33

Porovnáním aritmetických průměrů lze určit, že množství navážky neovlivňuje výsledky měření.

#### **4.5 Test E – studium časové degradace analytů**

Cílem tohoto testu bylo porovnání výsledků dvou identických sad vzorků. Jedna sada byla změřena ihned po přípravě a druhá byla ponechána v lednici a změřena až po 3 dnech. Každá sada obsahovala 15 vialek s 1 g referenčních pilin a 4 ml vody. Následně byl do všech vzorků přidán 1  $\mu$ l kalibračního standardu HCH a 10  $\mu$ l ISTD pro SPME.

Plochy jednotlivých izomerů HCH byly porovnány s plochou interního standardu. Byly vytvořeny následující tabulky pro výsledky obou sad.

Tabulka 14: Statistika obou sad vzorků

Sada A	$\alpha$ -HCH (area ratio)	$\beta$ -HCH (area ratio)	$\gamma$ -HCH (area ratio)	$\delta$ -HCH (area ratio)	$\epsilon$ -HCH (area ratio)
Aritmetický průměr	6,00	0,69	2,70	1,18	1,74
Směrodatná odchylka	0,42	0,57	0,22	0,72	1,08
Variační koeficient [%]	7	83	8	61	62
Sada B	$\alpha$ -HCH (area ratio)	$\beta$ -HCH (area ratio)	$\gamma$ -HCH (area ratio)	$\delta$ -HCH (area ratio)	$\epsilon$ -HCH (area ratio)
Aritmetický průměr	5,63	0,61	2,58	1,02	1,52
Směrodatná odchylka	0,26	0,34	0,15	0,53	0,79
Variační koeficient [%]	5	55	6	52	52

Rozdílem statistik pro jednotlivé sady byl zjištěn úbytek analytů u sady B. Procentuální úbytek je u jednotlivých izomerů následující:

Tabulka 15: Procentuální úbytek jednotlivých izomerů

	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH
Úbytek [%]	6,3	11,5	4,3	13,8	12,7

Bylo prokázáno, že jednotlivé analyty podléhají buď časové degradaci nebo přeměně na ostatní izomery. Dalším vysvětlením by mohla být větší sorpce na dřevní hmotu. Pro optimální výsledky analýz je vhodné vyhodnotit připravené vzorky bez větší časové prodlevy. Úbytku více podléhají izomery  $\beta$ -HCH,  $\delta$ -HCH a  $\epsilon$ -HCH. U izomerů  $\alpha$ -HCH a  $\gamma$ -HCH byl zaznamenán nižší pokles.

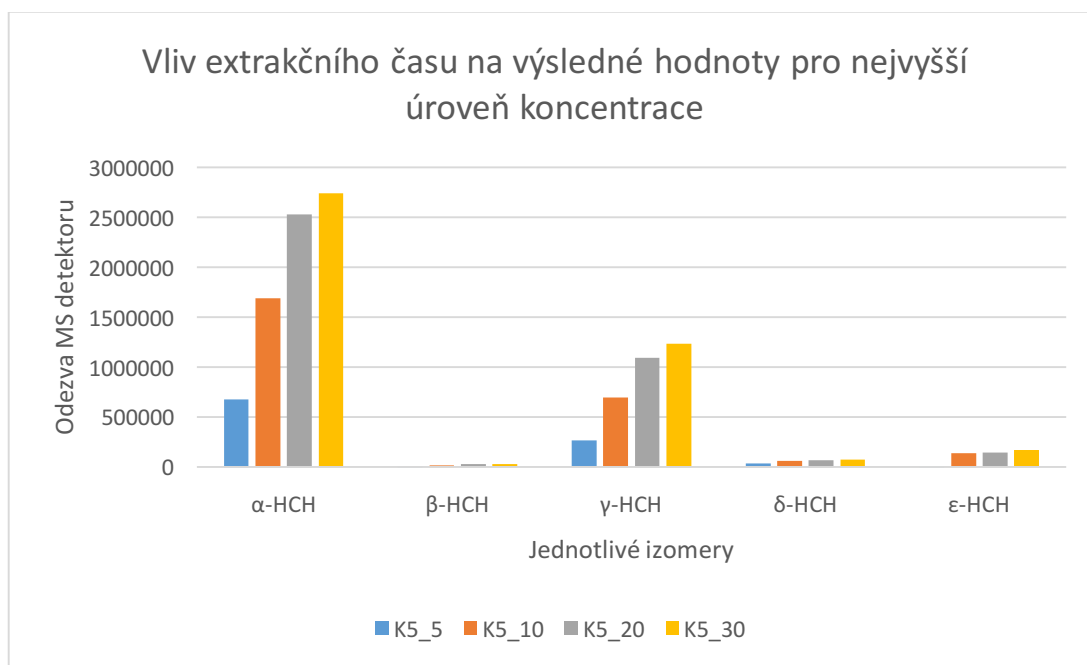
#### 4.6 Test F – kalibrace na vodě

Byly připraveny 4 sady vialek o objemu 20 ml. Každá sada obsahovala 5 vialek s označením K1 až K5. Do vialek bylo nadávkováno 10 ml odstáté vody. Následně bylo dávkováno 10  $\mu$ l interního standardu pro SPME (ISTD) do všech vzorků. Dále bylo přidáno 5 odlišných množství kalibračního roztoku, který obsahoval kalibrační standard HCH podle následující tabulky.

Tabulka 16: Test A – kalibrace vody

	V H <sub>2</sub> O [μl]	V zásobního roztoku [μl]	Koncentrace HCH [ng·l <sup>-1</sup> ]	Ředění
K1	9995	5	50	2000
K2	9990	10	100	1000
K3	9950	50	500	200
K4	9750	250	2500	40
K5	9500	500	5000	20

Pro každou sadu vzorků (K1-K5) byl zvolen odlišný extrakční čas – 5, 10, 20 a 30 minut.

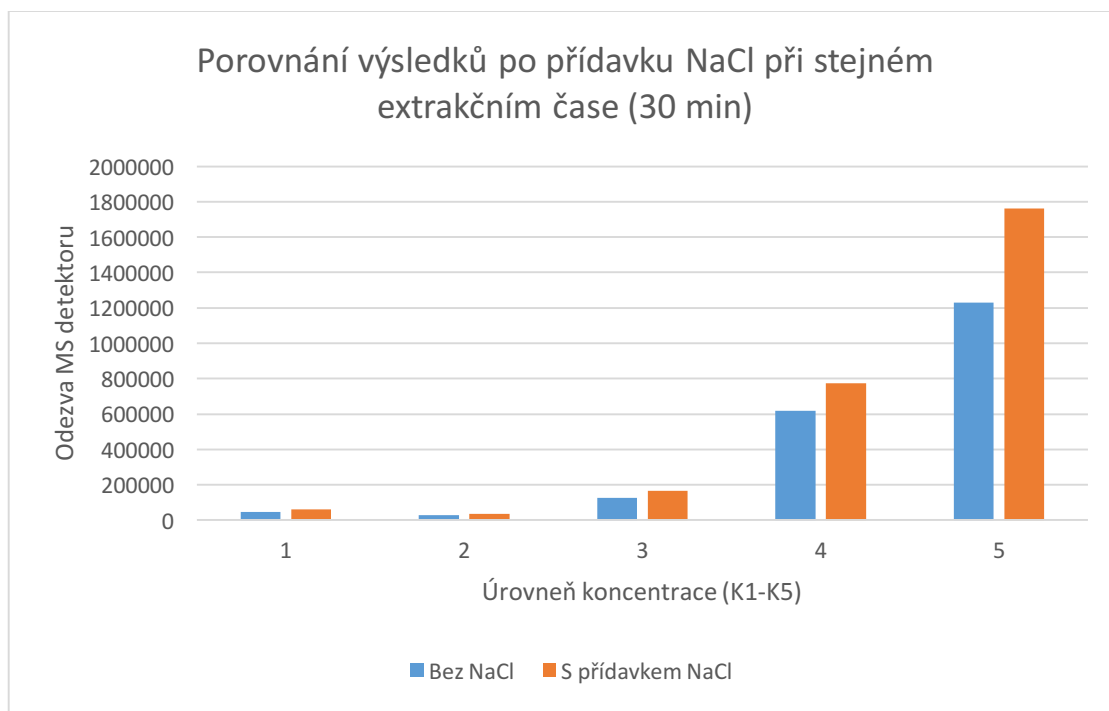


Graf 8: Vliv extrakčního času na výsledky analýzy pro nejvyšší úroveň koncentrace

Zvýšením extrakčního času lze dosáhnout větší efektivity extrakce. Cílem tohoto testu bylo určení ideální doby extrakce. Z výsledků bylo zjištěno, že už po 20 minutách se množství extrahované látky nijak rapidně nezvyšuje, a to z důvodu nasycení povrchu sorbentu. Optimální čas extrakce byl tímto testem stanoven na 30 minut. Delší extrakční čas by byl neefektivní, kvůli nízkému přírůstku analyzované látky na úkor vyšší časové náročnosti jednoho vzorku.

## 4.7 Test G – kalibrace na vodě s přidavkem NaCl

Obdobný test byl proveden pro další sadu vzorků, které navíc obsahovaly přidavek NaCl (0,225 g), jenž by měl podpořit tzv. vysolovací efekt během extrakce analytů. Test byl opět pro 5 kalibračních úrovní, ale jen při jednom extrakčním čase (30 minut).



*Graf 9: Porovnání výsledků při stejném extrakčním čase po přidavku NaCl*

Úkolem tohoto testu bylo prozkoumat vliv přidavku NaCl při stejných parametrech měření. Přidavkem 0,225 g NaCl do vzorků byla zvýšena účinnost extrakce, a to u všech kalibračních úrovní (K1-K5). Procentuální přírůstek po přidavku NaCl ukazuje následující tabulka.

*Tabulka 17: Procentuální přírůstek po přidavku NaCl*

	Přírůstek [%]
K1	32,6
K2	24,8
K3	31,8
K4	25,7
K5	43,2

## 4.8 Test H – kalibrace analytů pro odlišné matrice

V další části se práce zaměřuje na průzkum vlivu matric na výsledky měření. Byly srovnány 3 typy matric. První z nich byla odstátá voda, druhou byly piliny získané vrtáním a poslední byly hobliny získané řezáním přímočarou pilou referenční olše.

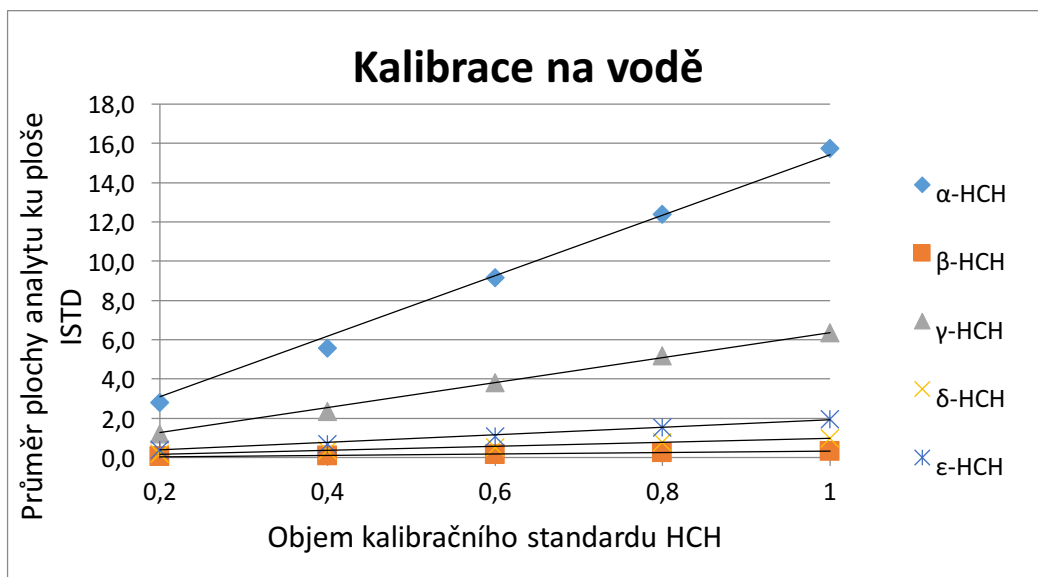
Byly připraveny 3 sady vzorků pro každý typ matrice, ve kterých bylo 6 vialek (K0-K5). Každá sada byla připravena v triplikátech. K pevným matricím byly dávkovány 4 ml vody. Do všech vzorků bylo přidáno 10  $\mu\text{l}$  ISTD. Následovaly odlišné dávky kalibračního standardu pro jednotlivé kalibrační úrovně podle následující tabulky.



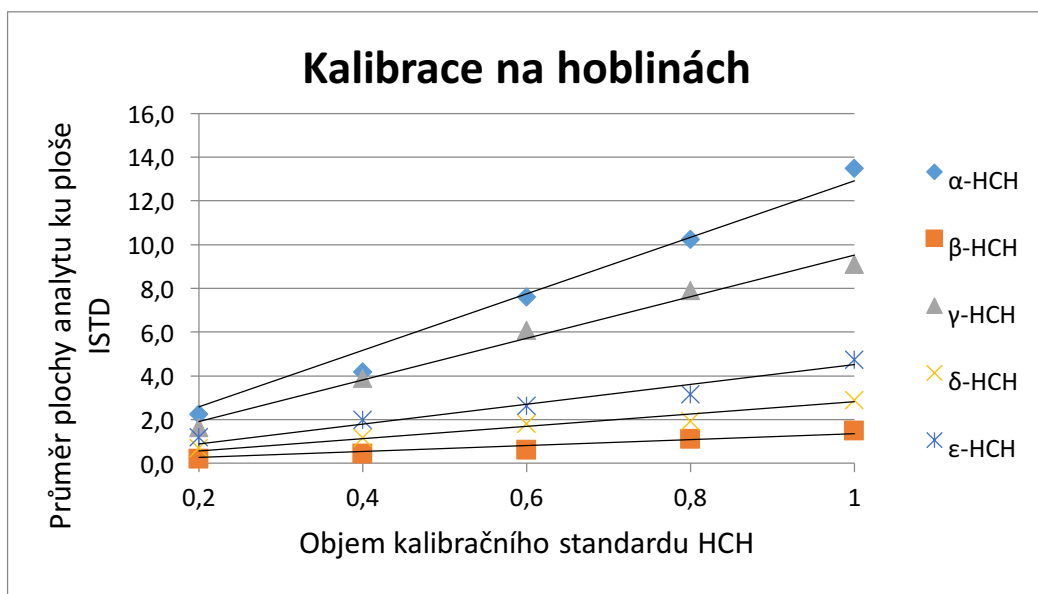
Obrázek 29: Fotografie z přípravy kalibrace 3 typů matric, zleva: voda, hobliny, piliny

Tabulka 18: Kalibrace na různých druzích matrice

	ISTD [ $\mu\text{l}$ ]	HCH [ $\mu\text{l}$ ]
K0 (blank)	10	0,0
K1	10	0,2
K2	10	0,4
K3	10	0,6
K4	10	0,8
K5	10	1,0

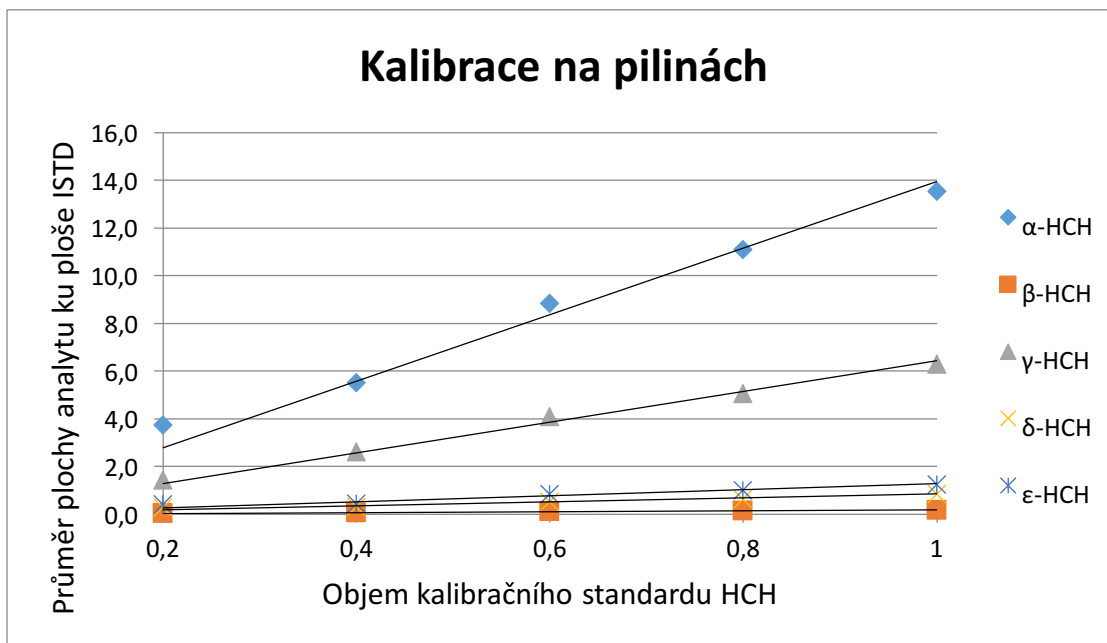


Graf 10: Kalibrace na vodě



Graf 11: Kalibrace na hoblinách





*Graf 12: Kalibrace na pilinách*

Na základě průměru ploch analytů a interních standardů byly vykresleny kalibrační přímky pro jednotlivé izomery u všech třech typů matric. Spočítanou linearitu výsledných hodnot pro jednotlivé izomery ukazuje následující tabulka.

*Tabulka 19: Hodnota spolehlivosti jednotlivých izomerů pro 3 typy matric*

	Voda	Hoblíny	Piliny
$\alpha$ -HCH	0,995	0,983	0,980
$\beta$ -HCH	0,994	0,938	0,972
$\gamma$ -HCH	0,997	0,987	0,993
$\delta$ -HCH	0,991	0,948	0,933
$\epsilon$ -HCH	0,994	0,945	0,914

Výsledné hodnoty spolehlivosti dokazují největší linearitu u vzorků vody, a to pro všechny zkoumané izomery. Porovnáním hodnot jen pevných matric byly naměřené hodnoty lineárnější u hoblin pro izomery  $\alpha$ -HCH,  $\delta$ -HCH,  $\epsilon$ -HCH. U izomerů  $\beta$ -HCH a  $\gamma$ -HCH byly naopak lineárnější hodnoty u pilin. Následně byly porovnány hodnoty odezvy detektoru podle následující tabulky.

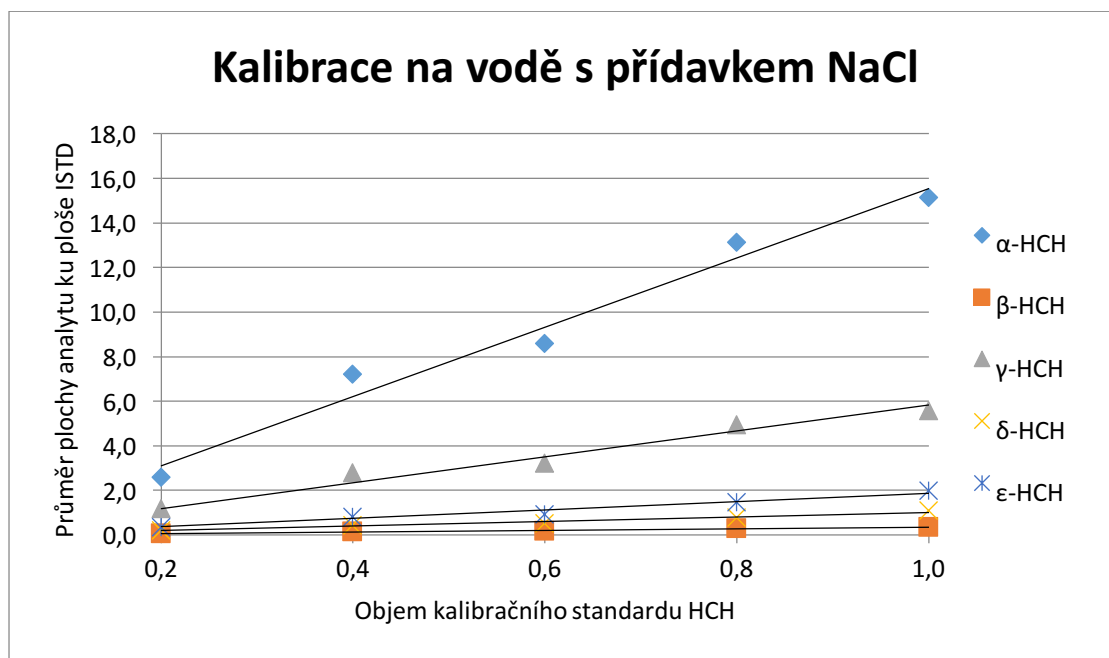
Tabulka 20: Odezvy detektoru jednotlivých izomerů pro 3 typy matric při nejvyšší úrovni koncentrace (K5)

	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\varepsilon$ -HCH
Voda	15,7	0,3	6,4	1,0	2,0
Hoblíny	13,5	1,5	9,1	2,9	4,8
Piliny	13,6	0,2	6,3	0,9	1,3

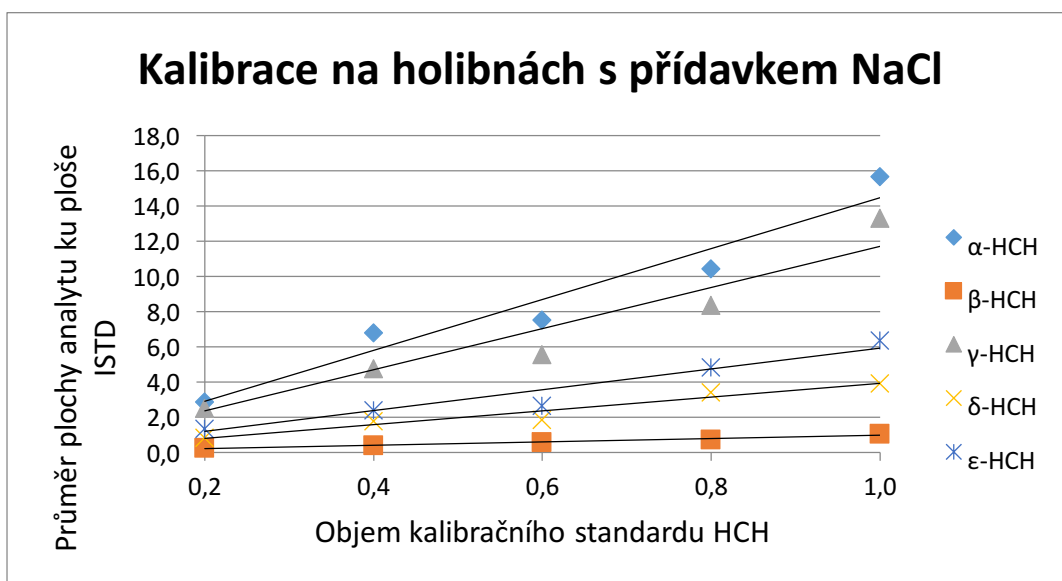
Z hodnot byla zjištěna nejvyšší odezva detektoru u izomeru  $\alpha$ -HCH u vodné matrice. Všechny ostatní izomery dosahují nejvyšší odezvy u hoblin. Tímto testem byl prozkoumán vliv matrice na výsledky analýz. Díky nejvyšší odezvě detektoru byly nejvhodnějším typem tuhých matric pro analýzy jednotlivých izomerů HCH stanoveny hobliny, vzniklé řezáním přímočarou pilou.

#### 4.9 Test I – kalibrace analytů pro odlišné matrice s přidavkem NaCl

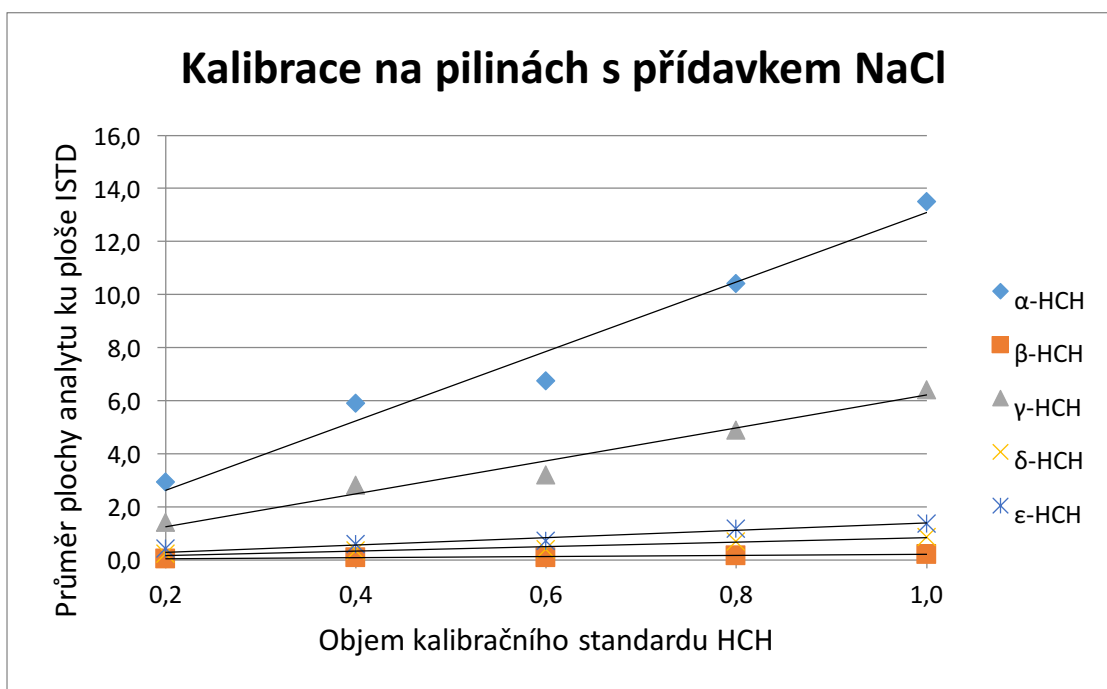
Následoval stejný test jako v předchozím případě s tím rozdílem, že ke všem vzorkům bylo přidáno přibližně 0,225 g NaCl.



Graf 13: Kalibrace na vodě s přidavkem NaCl



Graf 14: Kalibrace na holibnách s přidavkem NaCl



Graf 15: Kalibrace na pilinách s přidavkem NaCl

Na základě výsledků byly vykresleny kalibrační přímky pro jednotlivé izomery u všech druhů matic. Linearita výsledných hodnot je ukázána v následující tabulce.

Tabulka 21: Hodnoty spolehlivosti pro jednotlivé izomery u všech typů matric

	Voda	Hobliny	Piliny
$\alpha$ -HCH	0,975	0,944	0,971
$\beta$ -HCH	0,981	0,971	0,943
$\gamma$ -HCH	0,965	0,917	0,970
$\delta$ -HCH	0,969	0,943	0,938
$\epsilon$ -HCH	0,964	0,938	0,926

Výsledné hodnoty spolehlivosti dokazují největší linearitu u vzorků vody, a to pro všechny zkoumané izomery, kromě  $\gamma$ -HCH. Porovnáním hodnot jen pevných matric byly naměřené hodnoty lineárnější u hoblin pro izomery  $\beta$ -HCH,  $\delta$ -HCH,  $\epsilon$ -HCH. U izomerů  $\alpha$ -HCH a  $\gamma$ -HCH byly naopak lineárnější hodnoty u pilin. Následně byly porovnány hodnoty odezvy detektoru u vzorků s nejvyšší koncentrací analytů podle následující tabulky.

Tabulka 22: Hodnoty odezvy detektoru jednotlivých izomerů pro všechny 3 typy matrice pro nejvyšší koncentraci (K5)

	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH
Voda	15,1	0,3	5,6	1,1	2,0
Hobliny	15,7	1,1	13,3	3,9	6,3
Piliny	13,5	0,2	6,4	0,9	1,4

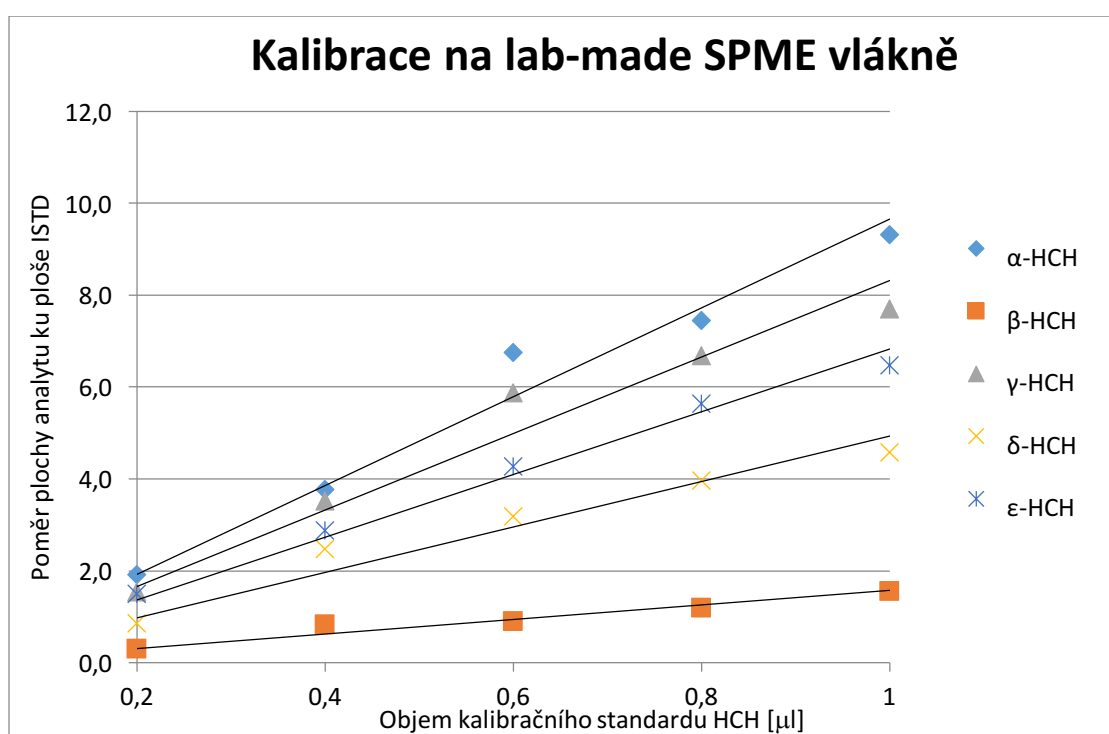
Nejvyšší odezva detektoru byla zjištěna opět u izomeru  $\alpha$ -HCH. Po přidavku NaCl se zvýšila i odezva detektoru  $\gamma$ -HCH u hoblin až o 46 %. Přídavek soli však ve zbytku měření nijak výrazněji neovlivnil množství extrahovaných analytů a to z důvodu delšího extrakčního času. Vliv přidavku NaCl se projeví jen při nižších extrakčních časech. Největší odezva detektoru byla v tomto případě pro všechny izomery u hoblin získaných přímočarou pilou. Výsledkem testu byla ověřena efektivita analýzy z hoblin.

#### 4.10 Test J – kalibrace lab-made SPME vlákna

Byly připraveny triplikáty pěti kalibračních úrovní (K1-K5). Do všech byl navážen 1 g hoblin. Standardy byly dávkovány podle následující tabulky.

Tabulka 23: Příprava vzorku pro kalibraci lab-made SPME vlákna

	ISTD [ $\mu\text{l}$ ]	HCH [ $\mu\text{l}$ ]
K0 (blank)	10	0,0
K1	10	0,2
K2	10	0,4
K3	10	0,6
K4	10	0,8
K5	10	1,0



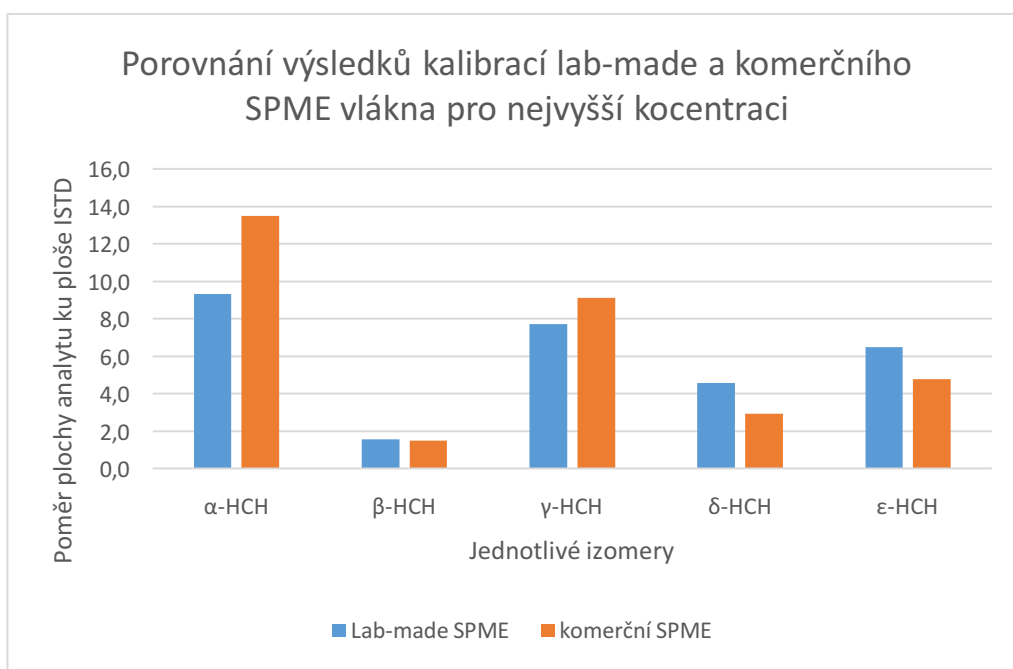
Graf 16: Kalibrační přímky pro jednotlivé izomery pro lab-made SPME vlákno

Pro vzorky měřené lab-made SPME vlákem byly stanoveny kalibrační křivky. Linearitu jednotlivých izomerů popisuje následující tabulka.

Tabulka 24: Linearita jednotlivých izomerů pro vzorky měřené lab-made SPME vláknem

Izomery HCH	Lab-made SPME
$\alpha$ -HCH	0,968
$\beta$ -HCH	0,946
$\gamma$ -HCH	0,950
$\delta$ -HCH	0,946
$\epsilon$ -HCH	0,986

Následně byly porovnány výsledky kalibrace z komerčního a lab-made vlákna, které ukazuje následující graf pro nejvyšší úroveň koncentrace.



Graf 17: Porovnání výsledků kalibrací lab-made a komerčního SPME vlákna pro nejvyšší koncentraci (K5)

Následující tabulka určuje procentuální rozdíl extrakce komerčního proti lab-made vláknu.

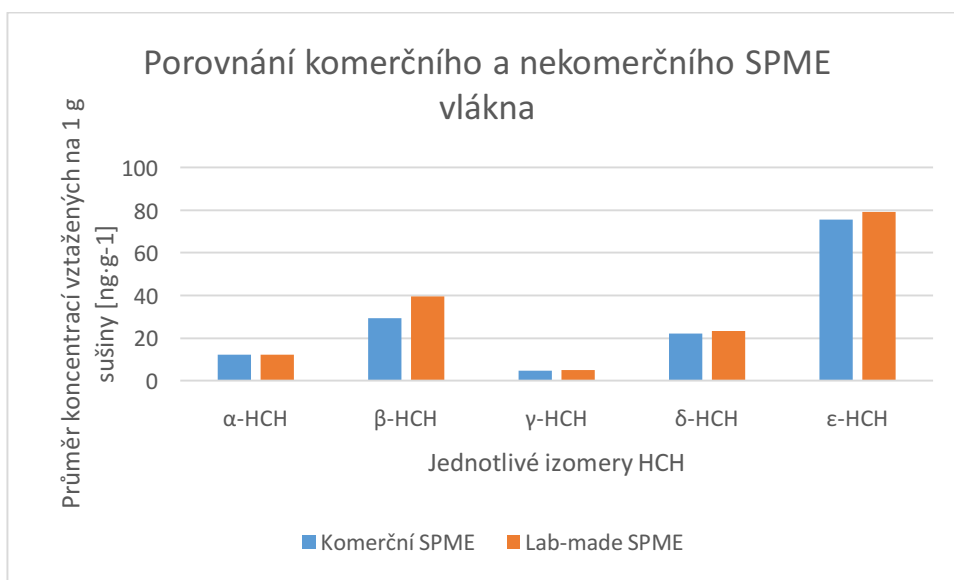
Tabulka 25: Tabulka rozdílné efektivity komerčního a lab-made vlákna

	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH
Rozdíl [%]	44,7	-3,4	18,2	-36,3	-26,5

Komerčním vláknem bylo extrahováno o 44,7 % více izomeru  $\alpha$ -HCH a o 18,2 %  $\gamma$ -HCH. Lab-made vláknem bylo naopak extrahováno o 3,4 %  $\beta$ -HCH, 36,3 %  $\delta$ -HCH a o 26,5 %  $\varepsilon$ -HCH více. Tímto testem byla ověřena použitelnost polysulfonových nanovláken jako sorbentu pro extrakci izomerů HCH, která u některých typů dokonce převyšovala výsledky komerčního vlákna. Jen pro představu, cena komerčního vlákna se pohybuje okolo 5000,- Kč bez zdanění. Výsledná cena lab-made vlákna vychází průměrně na 100,- Kč a lze jej navíc několikrát recyklovat.

#### 4.11 Test K – 2 metody extrakce na reálné matrici

V dalším testu byly připraveny 2 sady vzorků po šesti vialkách pro 2 rozdílné metody extrakce (komerční SPME, lab-made SPME). Do všech vialek byl navážen 1 gram kontaminované reálné matrice. K sadám byly následně přidány 4 ml vody a 10  $\mu$ l ISTD pro SPME.



Graf 18: Porovnání komerčního a lab-made SPME vlákna

K vyhodnocení výsledků byly použity kalibrační křivky z minulých testů. Výsledky byly přepočítány na koncentraci vztaženou na 1 g sušiny. Z výsledků experimentu bylo zjištěno, že oběma metodami lze získat téměř totožné výsledky. V případě izomerů  $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH a  $\delta$ -HCH bylo získáno téměř identické množství analytu. Izomeru  $\beta$ -HCH bylo v případě lab-made vlákna průměrně získáno o 34,3 % více než v případě komerčního vlákna. Vyšší hodnotu lze také sledovat u izomeru  $\varepsilon$ -HCH, kde ho bylo lab-made nosičem extrahováno o 4,6 % více. Tímto testem byla ověřena funkčnost samostatně připravených lab-made SPME vláken, které byly potaženy vlákny polysulfonu, získanými elektrostatickým zvlákňováním.

## 5 Výsledky a diskuze

Optimalizace metody mikroextrakce tuhou fází probíhala v několika krocích. První důležitou částí byl výběr polymeru, který musel splňovat několik důležitých vlastností, jako je například tepelná i chemická stabilita. Na základě vědeckých článků byl vybrán 1 polymer – polysulfon, který lze rozpustit a elektrostaticky zvláknit za laboratorních podmínek. Měrný povrch připravených nanovláken polysulfonu byl stanovený metodou BET na  $5,0 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Skelný přechod polysulfonu byl podle DSC stanoven na  $169,67 \text{ }^\circ\text{C}$ . Vlákna polysulfonu ztrácejí z počátku zahřívání do  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  10 % své původní hmotnosti. Důvodem jsou nejspíše zbytky rozpouštědla, které se z počátku zahřívání odpařuje. Většinu své hmoty dále ztrácejí až při  $450 \text{ }^\circ\text{C}$ . Průměr nanovláken se pohybuje okolo 1000 nm. Přibližná hmotnost navážky vláken na nosič byla zprvu měřena na vahách, avšak velmi nepřesně a byla proto vyvinuta metoda měření vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií. Průměrná hmotnost navážky je 52,5  $\mu\text{g}$ . Pro lepší uchycení vláken a ke zlepšení mechanických vlastností byl píst nosiče před potažením vlákny ponořen do roztoku rozpuštěného polysulfonu. Vlákna poté díky adhezi lépe přilnula na nosič.

Dalším bodem praktické části bylo vytvoření souboru opakovaných měření, z jejichž výsledků byly následně vypočítány parametry variability. Opakovatelnost byla stanovena u pilin a hoblin na referenčních vzorcích a následně u hoblin na reálných vzorcích. Ze získaných dat pro referenční piliny je patrné, že variabilitu hodnot vykazují izomery  $\beta$ -HCH,  $\delta$ -HCH a  $\varepsilon$ -HCH, zatímco izomery  $\alpha$ -HCH a  $\gamma$ -HCH nejsou nijak výrazněji zatížena chybou. Variační koeficient u vzorků hoblin je u všech sledovaných izomerů podobný. Dále je z výsledků sady hoblin po 3 dnech patrné, že oproti pilinám nedochází k úbytku analytů. Lze tedy předpokládat, že rozdílná zrnitost dřevní hmoty má vliv na stabilitu izomerů, nebo ovlivňuje jejich sorpci na biomasu. Následně byl proveden test pro stanovení opakovatelnosti na reálné matici ve formě hoblin. První sada byla extrahována kapalnými rozpouštědly, zatímco druhá byla extrahována metodou SPME. Lze však porovnávat pouze statistické hodnoty, jelikož obě sady byly měřeny odlišnými metodami. Z provedené analýzy je patrné, že je metoda LLE zatížena menší variabilitou. Metoda SPME však eliminuje potřebu použití organických rozpouštědel a je i méně časově náročná. Rozdíl ve variabilitě LLE a SPME je značný. Ve výsledku musí analytik volit mezi metodou, která má větší nejistotu stanovení, ale je ekologičtější a šetrnější vůči



iontovému zdroji MS/MS (tj. SPME) a metodou, která má menší variabilitu, ale využívá rozpouštědla a vede k nutnosti častější údržby iontového zdroje.

V dalším testu byl prozkoumán vliv množství matrice a přídavku odstáté vody na odezvu detektoru. Překvapivě se ukázalo, že množství navážky vzorku nijak výrazně neovlivňuje výslednou odezvu. Porovnáním grafů sady bez přídavku a s přídavkem odstáté vody je patrné, že voda výrazně stabilizuje výsledné hodnoty, tj. snižuje variabilitu odezvy. Hodnoty vzorků bez přídavku vody velmi kolísají v důsledku nehomogenního obsahu vody v matrici. Přídavkem 4 ml odstáté vody se však tento rozdíl vyrovná.

Dalším krokem byl test, který si kladl za cíl prozkoumat časovou degradaci analytů na vzorcích referenčních pilin. 3 dny trvající časová prodleva, která dělila měření obou sad, zapříčinila znatelný úbytek analytů. Z hodnot bylo zjištěno, že degradaci nebo přeměně na ostatní izomery více podléhají izomery  $\beta$ -HCH,  $\delta$ -HCH a  $\epsilon$ -HCH. Dále je možné, že odlišná zrnitost ovlivňuje sorpci analytů na dřevní hmotu. Izomery  $\alpha$ -HCH a  $\gamma$ -HCH tak značný úbytek nevykazují. V případě použití pilin k extrakci analytů je na základě těchto výsledků doporučeno vyhodnotit vzorky bez větší časové prodlevy.

Dalším sledovaným parametrem byl odlišný extrakční čas. Zkoumané vzorky byly extrahovány 5, 10, 20 a 30 minut. Z grafu pro nejvyšší kalibrační úroveň bylo poté určeno, že zvýšením extrakčního času dochází ke zvýšení efektivity extrakce, avšak jen do bodu, kdy je povrch sorbentu nasycen. Optimální čas extrakce byl tímto testem stanoven na 30 minut.

Následovalo experimentální ověření vlivu salinity na odezvu MS detektoru. Z výsledných dat bylo ověřeno, že přídavek NaCl podporuje tzv. vysolovací efekt během extrakce analytů. Tento efekt se ovšem ztrácí během analýz s delšími extrakčními časy (okolo 60 minut).

Pro potřeby praktické části byly také vytvořeny kalibrační křivky pro vzorky vody, pilin a hoblin. Dále také pro 2 extrakční metody (komerční SPME vlákno, lab-made SPME vlákno). Trend křivek byl u všech měření lineární a byly stanoveny hodnoty spolehlivosti. Na základě kalibračních křivek byly poté stanoveny a vyhodnoceny analyty v reálných maticích. Následně byly porovnány efektivity komerčního a lab-made nosiče. Z výsledků analýz je patrné, že samostatně sestavený nosič, potažený samostatně připravenými nanovláknými polysulfonu dosahuje stejných (u některých izomerů i lepších) výsledků než zakoupené komerční vlákno. Výhodou lab-made nosiče je jeho nízká cena a možnost několikanásobné recyklace.

## 6 Závěr

V teoretické části této bakalářské práce byla vypracována literární rešerše, obsahující všeobecný přehled stěžejních poznatků z oboru analytické chemie z oblasti, kterou se tato závěrečná práce zabývá. Literární rešerše se zaměřuje na popis techniky a všeobecně používaných přístrojů v analytické chemii, z nichž některé byly použity i při vyhodnocování výsledků praktické části. Obsahem je také popis zkoumaných analytů a extrakčních metod.

Praktická část obsahuje řadu testů zaměřených na optimalizaci podmínek ovlivňujících výsledky extrakce zkoumaných analytů. Bylo zjištěno, že jednotlivé testy je díky snazší přípravě a lepším výsledkům vhodné provádět na hoblinách spíše než na pilinách. Úbytek analytů způsobený časovou prodlevou mezi přípravou a vyhodnocením byl prokázán pouze v případě pilin. Dále bylo prokázáno, že pro získání stabilních výsledků z pevných matic biomasy, je nezbytný přídavek vody nejméně o objemu 4 ml. Při kratších extrakčních časech je možné využít přídavku NaCl, který zefektivní extrakci.

Nejdůležitějším bodem bylo porovnání výsledků komerčního a lab-made SPME vlákn. Bylo experimentálně ověřeno, že lab-made SPME vlákno potažené samostatně připravenými polysulfonovými nanovláknými dosahuje stejných a pro některé izomery i lepších výsledků než vlákno komerční, které jej několikanásobně převyšuje svou cenou.

## 7 Seznam použité literatury

ADAMEC, Ing Vladimír, Mgr Pavel ČUPR, Ing Karel BLÁHA, MVDr Jiří DRÁPAL, Ing Jana HAJŠLOVÁ, Simona HRABĚTOVÁ, Ing Libor JECH, RNDr Jana KLÁNOVÁ, Pavel MACHÁLEK, Ing Vít MATĚJŮ a Ing Jiří MATOUŠEK, 2006. Národní implementační plán Stockholmské úmluvy v České republice. 193.

BARTOŇ, Jan, 2015. *Skládka balastních izomerů a chlorovaných benzennů z výroby HCH Spolana Neratovice na lokalitě Hájek u Karlových Varů v České republice* [online]. 2015. B.m.: GEOtest, a.s. Dostupné z: [http://www.geotest.cz/underwood/download/files/barton\\_cambelove\\_dni\\_2015.pdf](http://www.geotest.cz/underwood/download/files/barton_cambelove_dni_2015.pdf)

BLÁHA, Ing Karel et al., 2017. *Aktualizovaný Národní implementační plán Stockholmské úmluvy o perzistentních organických polutantech v České republice na léta 2018-2023* [online]. 2017. B.m.: Ministerstvo životního prostředí. Dostupné z: [https://www.mzp.cz/cz/strategicke\\_dokumenty\\_stockholmska\\_umluva](https://www.mzp.cz/cz/strategicke_dokumenty_stockholmska_umluva)

BREIVIK, Knut, Jozef M. PACYNA a Jörg MÜNCH, 1999. Use of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane in Europe, 1970–1996. *Science of The Total Environment* [online]. 239(1–3), 151–163. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/S0048-9697(99)00291-0

DIAMO, 2017. *Hájek - výsypka lomu | DIAMO, státní podnik* [online] [vid. 2017-12-04]. Dostupné z: <http://www.diamo.cz/hajek>

EPA, 2000. *Lindane (Gamma-Hexachlorocyclohexane)* [online]. 2000. B.m.: United States Environmental Protection Agency. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/lindane.pdf>

FRIEDECKÝ, David a Karel LEMR, 2012. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*. (No.3), 152–157. ISSN 1210-7921.

GROB, Robert Lee a Eugene F. BARRY, ed., 2004. *Modern practice of gas chromatography*. 4th ed. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience. ISBN 978-0-471-22983-4.

HOFFMANN, Edmond de a Vincent STROOBANT, 2007. *Mass spectrometry: principles and applications*. 3rd ed. Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ: J. Wiley. ISBN 978-0-470-03310-4.

ILYINA, Tatjana P., 2007. *The fate of persistent organic pollutants in the North Sea: multiple year model simulations of [gamma]-HCH, [alpha]-HCH and PCB 153*. Berlin ; New York: Springer. Hamburg studies on maritime affairs, v. 7. ISBN 978-3-540-68162-5.

IOAN, Silvia, 2015. *Functionalized polysulfones: synthesis, characterization, and applications*. Boca Raton: CRC Press. ISBN 978-1-4822-5554-6.

KITSON, Fulton G., Barbara Seliger LARSEN a Charles N. MCEWEN, 1996. *Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide*. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-483385-2.

KLOUDA, Pavel, 2003. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Pavel Klouda. ISBN 978-80-86369-07-5.

LAL, Rup, Gunjan PANDEY, Pooja SHARMA, Kirti KUMARI, Shweta MALHOTRA, Rinku PANDEY, Vishakha RAINA, Hans-Peter E. KOHLER, Christof HOLLIGER, Colin JACKSON a John G. OAKESHOTT, 2010. Biochemistry of Microbial Degradation of Hexachlorocyclohexane and Prospects for Bioremediation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. **74**(1), 58–80. ISSN 1092-2172, 1098-5557. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.00029-09

LANGE, Vinzenz, Paola PICOTTI, Bruno DOMON a Ruedi AEBERSOLD, 2008. Selected reaction monitoring for quantitative proteomics: a tutorial. *Molecular Systems Biology* [online]. **4**(1), 222. ISSN 1744-4292, 1744-4292. Dostupné z: doi:10.1038/msb.2008.61

MEYERS, Robert A., ed., 2000. *Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory, and instrumentation*. Chichester ; New York: Wiley. ISBN 978-0-471-97670-7.

MOL, Hans G.J., Marc TIENSTRA a Paul ZOMER, 2016. Evaluation of gas chromatography – electron ionization – full scan high resolution Orbitrap mass spectrometry for pesticide residue analysis. *Analytica Chimica Acta* [online]. **935**, 161–172. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2016.06.017

MZP, 2018. *Stockholmská úmluva o persistentních organických polutantech (2001)* [online]. 2018. B.m.: Ministerstvo životního prostředí. Dostupné z: [https://www.mzp.cz/cz/stockholmska\\_umluva\\_polutanty](https://www.mzp.cz/cz/stockholmska_umluva_polutanty)

PAWLISZYN, Janusz, 2012. *Handbook of Solid Phase Microextraction*. London: Elsevier.

PROCHÁZKOVÁ, Dana, 2002. Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů. *Chemické listy*. **96**, 827–852.

RŮŽIČKOVÁ, Jana, TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI a KATEDRA NETKANÝCH TEXTILIÍ, 2006. *Elektrostatické zvlákňování nanovláken*. Liberec: Technická univerzita v Liberci. ISBN 978-80-7372-066-7.

SIGMA-ALDRICH CO., 1998. Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions.

SIGMA-ALDRICH CO., nedatováno. Selection Guide for Supelco SPME Fibers. *Sigma-Aldrich* [online] [vid. 2018-03-31]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/selecting-spme-fibers.html>

STASHENKO, Elena a Jairo REN, 2014. Gas Chromatography-Mass Spectrometry. In: Xinghua GUO, ed. *Advances in Gas Chromatography* [online]. B.m.: InTech [vid. 2017-12-10]. ISBN 978-953-51-1227-3. Dostupné z: doi:10.5772/57492

TROUGHTON, Michael John, ed., 2008. *Handbook of plastics joining: a practical guide*. 2nd ed. Norwich, NY : Cambridge, UK: William Andrew ; TWI/The Welding Institute. PDL handbook series. ISBN 978-0-8155-1581-4.

## 8 Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma plynové chromatografie.....	14
Obrázek 2: Tepelně-vodivostní detektor.....	16
Obrázek 3: Plamenový ionizační detektor .....	16
Obrázek 4: Eluční metoda.....	17
Obrázek 5: Popis ideálního chromatogramu při eluční metodě.....	18
Obrázek 6: Příklad chromatogramu kvalitativní analýzy průmyslových rozpouštědel ..	19
Obrázek 7: Kalibrační křivka.....	20
Obrázek 8: Schéma hmotnostního spektrometru .....	21
Obrázek 9: Schéma elektronové ionizace .....	21
Obrázek 10: Schéma trojitého kvadrupólu .....	22
Obrázek 11: Mechanismus sorpce kapalných (a) a pevných (b) sorbentů.....	24
Obrázek 12: Schéma headspace extrakce .....	26
Obrázek 13: SPME vlákno.....	27
Obrázek 14: Metoda externí kalibrace pro kapalné roztoky toluenu.....	28
Obrázek 15: Metoda standardního přídatku pro kapalné roztoky toluenu.....	29
Obrázek 16: Kalibrace metodou interního standardu .....	30
Obrázek 17: Struktury jednotlivých izomerů a dvou enantiomerů $\alpha$ -HCH.....	31
Obrázek 18: Schéma elektrostatického zvlákňování .....	34
Obrázek 19: Opakující se jednotka PSU.....	34
Obrázek 20: Přípravek na zjednodušení kompletace SPME vláken.....	37
Obrázek 21: Zleva: jednotlivé součásti lab-made SPME vlákna, sestavené lab-made vlákno, komerční SPME vlákno .....	37
Obrázek 22: Lab-made vlákno potažené polysulfonovými nanovláknými.....	38
Obrázek 23: DSC záznam (fáze ohřevu) .....	39
Obrázek 24: Termogravimetrická analýza polysulfonových vláken .....	40
Obrázek 25: Termogravimetrická analýza polysulfonu.....	40
Obrázek 26: Snímek polysulfonových nanovlákných struktur (SEM) .....	41
Obrázek 27: Snímek polysulfonových nanovlákných struktur (SEM) .....	41
Obrázek 28: Snímek povrchu polysulfonových nanovlákných struktur (SEM) .....	42
Obrázek 29: Fotografie z přípravy kalibrace 3 typů matric.....	55

## 9 Seznam tabulek

Tabulka 1: Selektce typů SPME vláken pro určité skupiny analytů.....	27
Tabulka 2: Příprava polymerů pro elektrostatické zvlákňování .....	38
Tabulka 3: Podmínky elektrostatického zvlákňování .....	38
Tabulka 4: Koncentrace jednotlivých kalibračních úrovní pro HPLC kalibraci PSU ....	43
Tabulka 5: Přehled testů A-K .....	44
Tabulka 6: Statistika opakovatelnosti metody pro sadu A.....	45
Tabulka 7: Statistika opakovatelnosti metody pro sadu B.....	46
Tabulka 8: Opakovatelnost metody pro referenční hobliny .....	47
Tabulka 9: Statistika opakovatelnosti metody referenčních hoblin u sady A.....	47
Tabulka 10: Statistika opakovatelnosti referenčních hoblin – sada B .....	48
Tabulka 11: Statistika pro sadu extrahovanou směsí rozpouštědel .....	49
Tabulka 12: Statistika pro sadu extrahovanou SPME vláknem.....	49
Tabulka 13: Statistika vlivu matrice s přidanou vodou .....	51
Tabulka 14: Statistika obou sad vzorků .....	52
Tabulka 15: Procentuální úbytek jednotlivých izomerů .....	52
Tabulka 16: Test A – kalibrace vody .....	53
Tabulka 17: Procentuální přírůstek po přidavku NaCl .....	54
Tabulka 18: Kalibrace na různých druzích matrice .....	55
Tabulka 19: Hodnota spolehlivosti jednotlivých izomerů pro 3 typy matric .....	57
Tabulka 20: Odezvy detektoru jednotlivých izomerů pro 3 typy matric .....	58
Tabulka 21: Hodnoty spolehlivosti pro jednotlivé izomery u všech typů matric .....	60
Tabulka 22: Hodnoty odezvy detektoru jednotlivých izomerů pro všechny 3 typy matrice .....	60
Tabulka 23: Příprava vzorku pro kalibraci lab-made SPME vlákna .....	61
Tabulka 24: Linearita jednotlivých izomerů pro vzorky měřené lab-made SPME vláknem .....	62
Tabulka 25: Tabulka rozdílné efektivity komerčního a lab-made vlákna .....	62

## 10 Seznam grafů

Graf 1: Kalibrační křivka polysulfonu (PSU).....	43
Graf 2: Opakovatelnost metody sady A.....	45
Graf 3: Opakovatelnost metody B .....	46

Graf 4: Opakovatelnost metody referenčních hoblin – sada A.....	47
Graf 5: Opakovatelnost metody referenčních hoblin – sada B.....	48
Graf 6: Ověření vlivu množství matrice na výsledky analýzy.....	50
Graf 7: Ověření vlivu množství matrice s přidavkem vody.....	50
Graf 8: Vliv extrakčního času na výsledky analýzy pro nejvyšší úroveň koncentrace ..	53
Graf 9: Porovnání výsledků při stejném extrakčním čase po přidavku NaCl.....	54
Graf 10: Kalibrace na vodě.....	56
Graf 11: Kalibrace na hoblinách.....	56
Graf 12: Kalibrace na pilinách.....	57
Graf 13: Kalibrace na vodě s přidavkem NaCl.....	58
Graf 14: Kalibrace na hoblinách s přidavkem NaCl.....	59
Graf 15: Kalibrace na pilinách s přidavkem NaCl.....	59
Graf 16: Kalibrační přímky pro jednotlivé izomery pro lab-made SPME vlákno.....	61
Graf 17: Porovnání výsledků kalibrací lab-made a komerčního SPME vlákna .....	62
Graf 18: Porovnání komerčního a lab-made SPME vlákna.....	63