

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

P írodov decká fakulta

Katedra analytické chemie



**ANALÝZA SYNTETICKÝCH ANALOG PÍřMA PLYNOVOU
CHROMATOGRÁFIÍ**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce:

Bc. Zuzana Ropková

Studijní obor:

Analytická chemie

Vedoucí diplomové práce:

Doc. RNDr. Petr Barták, Ph.D.

Konzultant:

M.Sc. Zoltán Pataj, Ph.D.

Olomouc 2014

SOUHRN

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) byla použita pro screeningovou analýzu galaxolidu, tonalidu, traseolidu, ketonového piflmu, xylenového piflmu a ambretového piflmu v komerčních přípravcích (kosmetika, čistící prostředky, průmyslové přípravky). Syntetická piflma byla detekována v 39 z celkového počtu 70 analyzovaných vzorků. SPME metoda byla dále využita pro detekci cílových sloučenin v ovzduší. Extrakce tuhou fází (SPE) byla využita pro analýzu syntetických piflmech v odpadních a povrchových vodách. Galaxolid a tonalid byly detekovány v povrchové vodě tří Olomouckých vodních toků na koncentrační úrovni 2,5 až 16 ng/l.

SUMMARY

Solid phase microextraction (SPME) was used for screening analysis of galaxolide, tonalide, traseolide, musk ketone, musk xylene and musk ambrette in various types of commercial preparations (cosmetics, cleaning preparations, industrial products). Synthetic musks were detected in 39 of 70 samples under investigation. SPME method was used for detection of target compounds in indoor air as well. Solid phase extraction (SPE) was used for analysis of synthetic musks in wastewater and in surface water. Galaxolide a tonalide was found in surface water from three water-course in Olomouc in concentration level from 2,5 to 16 ng/l.

Prohlá-uji, že jsem tuto práci vypracovala samostatn . Ve-keré literární prameny a informace, které jsem v práci vyuffila, jsou v seznamu pouflité literatury.

Souhlasím s tím, že práce je prezen n zp ístupn na v knihovn Katedry analytické chemie, P írodov decké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

Podpis.....

Podkování

Velmi ráda bych podkovala vedoucímu diplomové práce Doc. RNDr. Petru Bartákovi, Ph.D. a konzultantovi M.Sc. Zoltánu Patajovi, Ph.D. za jejich ochotu a věcné připomínky, rady a zásady, který mi při vytváření této práce vnovali.

Podkování patří také mé rodině za její vytrvalou podporu při studiu.

OBSAH

1	ÚVOD.....	1
2	TEORETICKÁ ÁST.....	2
2.1	V n	2
2.1.1	Historie.....	2
2.1.2	Základní slofky v ní.....	4
2.2	Rostlinné v n	8
2.2.1	Silice	9
2.3	řivo řné v n	11
2.3.1	Přfmo	11
2.3.2	Ostatní produkty	13
2.4	Syntetické vonné látky	14
2.4.1	První syntetické přfmo.....	14
2.4.2	Výroba a pouřtí	15
2.4.3	Obecné vlastnosti.....	15
2.4.4	Toxicita a výskyt v lidském t le.....	16
2.4.5	Výskyt v řP.....	17
2.5	Syntetická přřma a jejich rozd lení	18
2.5.1	Nitrovaná přřma	18
2.5.2	Polycyklická přřma.....	23
2.5.3	Makrocyklická přřma.....	27
2.5.4	Lineární přřma.....	29
2.6	Vybrané metody pro analýzu syntetických přřem.....	30
2.6.1	Extrakce tuhous fází (SPE).....	31
2.7	Mikroextrakce tuhous fází (SPME).....	33
2.7.1	Princip SPME	34
2.7.2	Optimalizace SPME.....	34
3	EXPERIMENTÁLNÍ ÁST	39
3.1	Chemikálie.....	39
3.2	P řstroje a pom cky	40

3.3	Analýza syntetických pífem.....	41
3.3.1	Analýza standard	41
3.3.2	SPME analýza	41
3.3.3	Analýza pracovního prost edí	42
3.3.4	Analýza odpadní vody	42
3.3.5	Analýza í ní vody.....	43
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	45
4.1	Analýza syntetických pífem.....	45
4.1.1	Výb r vlákna SPME	45
4.1.2	Doba sorpce.....	46
4.1.3	Screeningová analýza.....	47
4.1.4	Analýza pracovního prost edí	53
4.2	Analýza odpadní vody	55
4.2.1	Ú innost SPE.....	55
4.2.2	™mponová a mýdlová voda	56
4.3	Analýza vzork í ní vody	58
5	ZÁV R.....	60
6	SEZNAM POUfITÉ LITERATURY	61
7	SEZNAM POUfITÝCH ZKRATEK	61
8	P ÍLOHY	69

1 ÚVOD

Vonné látky se používají především při výrobě parfémů a toaletních vod, ale najdeme je také v celé řadě dalších přípravků. Přidávají se do mýdel, krémů, vlasové kosmetiky, sprchových gelů, líčidel, pracích prášků, mycích a čistících prostředků, osvěžovačů vzduchu, autokosmetiky a dalších výrobků. Přestože se dnes často setkáváme i s opačným trendem, tedy používáním neparfémované přípravy, jsou vonné látky stále velmi atraktivní.

Významnými vonnými látkami jsou syntetická piřma, která se ve velkých objemech produkuje po celém světě. Syntetická piřma, nebo-li „musků sloučeniny jsou chemické látky vyráběné za účelem náhrady vzácných přírodních produktů. Pojem špiřmoů při vodní označování silně aromatickou směsí látek živočišného původu, která je produkována v pohavních žlázách kabara piřmového. Zpracováním tohoto sekretu byla získána vonná směs, která se používala pro přípravu mastí a vonných olejů a později i parfémů. Pro svou smyslnou hodnotu bylo piřmo používáno dlouhá staletí. K významným živočišným produktům patří i ambra nebo cibet, které dnes také nahradily syntetické chemikálie.

Syntetická piřma lze klasifikovat do dvou skupin. Mezi hlavní dvě skupiny patří nitrovaná a polycyklická piřma, která se běžně vyskytují v mnoha produktech obsahujících slovo „Parfum“. Jsou levné, dostupné a vyrábějí se již dlouho. Dnes jsou však již některá syntetická piřma zakázána. Piřma jsou látky, které dlouho setrvávají v životním prostředí a velmi těžko se odbourávají. Jako problematická jsou vnímána zejména nitrovaná a polycyklická piřma. Místo nich se v dnešní době více prosazují méně nebezpečné makrocyclické a lineární analogy.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vůně

Pocity, které zažíváme, když nám někdo řekne, jak hezky voníme, vysvětlují, pro mnoho lidí tolik fascinuje svět vůní. Komplimenty na adresu naší vůně jsou příjemné a zvyknou si na sebevdomí.

Vůně vnímáme pomocí oluchového orgánu. Oluch je pro oluch ka velmi dlefitý, nebo pomáhá vnímat okolí. Vůně květin, světlého vzduchu nebo erstv p ipraveného jídla nám dodávají pocit lehkosti i touhy ochutnat daný pokrm. Naopak nep íjemné pachy v nás vyvolávají pocit ne istoty nebo upozor ují na zkafenou potravinu. Stejn tak vnímáme vůně i p i styku s druhými osobami. Pokofka každého oluch ka uvol uje svoji specifickou vůně, a díky tomu v nás p ítomný oluch k vyvolává r zné emoce. Pokud je nám jeho vůně p íjemná, je nám oluch k v t-inou sympatický a milý. Vůně dokáflou navodit pocit strachu nebo t stí i pocit bezpe í. Jejich p itaflivost je d lefitá, a ufl v osobním flivot tak i jako sou část reklam a obchodních taktik. Bylinné a p írodní vůně v nás zanechávají pocit istoty a svělesti, t flké vůně zase dojem luxusu a elegance. Vůně jsou nabité emocemi, vracejí se nám smutné i veselé okamflky a velmi ásto se nám ur ítá vůně pojí se záfltkem z minulosti. [1]

2.1.1 Historie

Vůně fascinovaly lidstvo od pradávna. Když lidé v době kamenné objevili ohe , objevili i v ně d eva, prysky ice a jiných p írodnin. P i spalování totifl docházelo k uvol ování r zných pach a vůní, které oluch ka inspirovali k prvním kou ovým rituál m. Dodnes se například p i církevních ob adech zapaluje kadidlo, jehofl zapálením vzniká specifická vůně. [1]

První zmínky o vonných p ísadách pochází ufl ze 4. století p ed naším letopo tem, a to z Egypta, Mezopotámie, íny a Indie. Pozd ji byly roz íeny i do ecka, Palestiny, íma, Persie a Arábie. Do Evropy se vonné sm si dostaly afl díky k íláckým výpravám, kdy je bojovníci p íváflili svým flenám a milenkám z dalekých východních zemí. [2],[3]

Významnou kulturou spojovanou se vznikem prvních vonných sm sí byl Egypt. Vonné p ísady se v po átcích uflvaly jako zápalné ob ti p i významných událostech, v t-inou

k uctívání božstev a vyšších mocí. Pro uchování v ní se připravovaly různé oleje a masti. Příprava vonných olejů tehdy spočívala v namáčení květů v olivovém nebo sezamovém oleji. Asi tisíc let před naším letopočtem došlo v Egyptě k velkému rozvoji umění a kultury, přičemž vonné oleje získávaly stále větší oblibu. Vzhledem k horkému podnebí se lidé oleji natírali velmi často a používali je k úpravě těl zemřelých (mumifikace, balzamování). [2]

Ekvivalentem k uctívání bohů a bohyň používali kouzelné rituály z východu. Hojně však používali vonné oleje, a to k péči o sebe sama. Hygiena a kultura těla byla v antice na vysoké úrovni a tak si bohatší vrstva obyvatel dopřávala voňavé koupele a masáže. Vonné směsi používali lidé i do omítek zdí nebo s nimi parfémovali zevnějšek společníky. Zvláště přizní se těm květinám květy fialek, jimiž se zdobila i vlhka nevěsta. [2]

Pestrá paleta barev, chutí a vůní se chlubí Indie. Vonné směsi v prvních dobách opotřebily k počtu božstev. Převládaly pryskyřice a květinové rostliny. Při archeologických výzkumech byl dokonce nalezen jednoduchý destilační přístroj, jehož stáří se odhaduje na 5000 let. K nejoblíbenějším rostlinám pro přípravu olejů patřila růže, jasmín, santal a hena. Mimo to se vonné oleje uplatňovaly v lékařství a jako afrodiziaka. Ještě v nedávné době obchodníci v ulicích indických měst prodávali erství namíchané vonné směsi přímo na míru zákazníka. V neorientálních zemích jsou zcela odlišné od vůní v Evropě a na západě. Jsou specificky sladké, těžké a smyslné. [2]

V Íráně byly v neobjektivně symbolem flakosti a v-eho krásného. Na rozdíl od ek se íané více orientovali na provonění prostředí, ve kterém žili. Nábytek se vyráběl z kastrovníku, ozdobné předměty ze santalu. Květ jasmínu se například používal i k ovonění aje. Tradiční íránská medicína v průběhu tisíciletí vyvinula mnoho léčebných postupů a přípravků s obsahem vonných ingrediencí a dodnes v ní této oblasti výzkumu velkou pozornost. [2]

Za skutečné průkopníky výroby parfémů jsou považováni Arabové. Významně se podíleli na rozvoji metod pro získávání vonných olejů, zejména destilací. Přestože destilační technika byla známá už v Egyptě nebo Indii, oni ji dovedli k dokonalosti. Prvotní vonné oleje vznikaly především z květinových olejů, které se rozsáhle používaly v městě v Íránu, Bagdádu. Evropa se seznámila s vonnými směsmi již během křesťanských výprav, ovšem velký rozvoj voňavkářství započal až v 16. století. Výrobu parfémů zavedla v Paříži francouzská královna Kateřina Medicejská, přivedem z Itálie. V Benátkách se totiž začalo obchodovat s vonnými látkami a teprve ve Francii započala jejich slavná éra. [2]

Prvním místem výroby parfémů se stalo msto Grass, které je dodnes považováno za msto parfémů. Velmi oblíbené byly zpočátku parfémované rukavice pro dámy, jednalo se doslova o revoluční objev. Úkolem parfému bylo tehdy zakrývat nepříjemné tělesné pachy. Na přelomu 17. a 18. století se na světě objevuje první kolínská neboli Eau de Cologne. Svůj název dostala po městě Kolín nad Rýnem, kde byla vytvořena Italem Giovanni M. Farinem. Světlo světa se vyvinuly až v polovině 18. století. Od 20. století se jífl s rozvojem chemie dala spousta rostlinných a zvířecích produktů nahradit syntetickými látkami a složení parfémů se tak obohatilo o několik stovek látek. [1],[2]

2.1.2 Základní složky v ní

Dnes mají tvůrci parfémů k dispozici asi 3000 syntetických a 400 přírodních základních vonných látek. Konečná kompozice parfému obsahuje asi 30 - 80 složek, ale mnohé jich obsahovat i mnohem víc. Nejoblíbenější jsou vlnky, ovoce, koření a rostlinných částí, například kora, kořeny nebo pryskyřice. Základní stavební kameny v ní doplují zvířecí složky jako cibet, ambra, piřlmo a bobřina, které se dnes vyrábí synteticky. Speciální skupinu pak tvoří aroma rzných pochoutek, jako jeokoláda, karamel, med nebo mandle. [1]

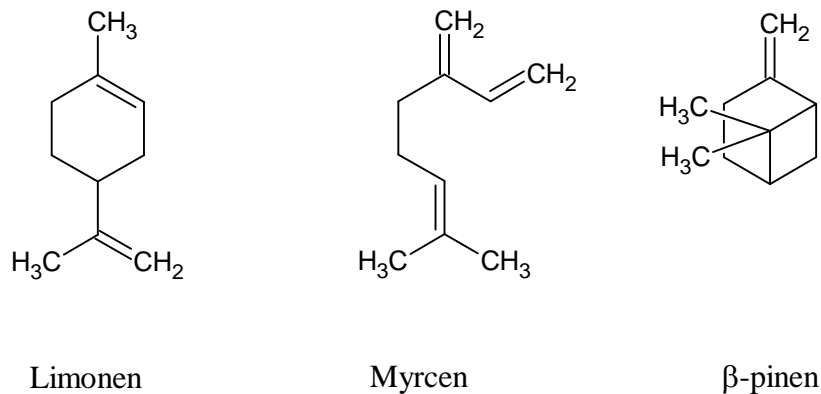
Vonné látky lze nalézt ve všech skupinách organických sloučenin. Nejznámější jsou terpenové uhlovodíky a od nich odvozené kyslíkaté deriváty. Ostatní alkoholy, ethery, karbonylové sloučeniny, acetyly a ketaly, kyseliny a jejich deriváty, fenoly, sirné a dusíkaté sloučeniny a heterocyklické sloučeniny se rovněž podstatně podílí na celkovém vonném vjemu. Nejvýznamnější skupiny jsou struěny charakterizovány v následujících podkapitolách. [4],[5]

2.1.2.1 Terpenové uhlovodíky

Terpenové uhlovodíky tvoří složky aroma mnoha rostlin a jejich částí. Významné jsou zejména monoterpeny a seskviterpeny. Většinou terpenové uhlovodíky jsou jako vonné látky indiferentní a bývají složkou pryskyřic. [5]

Lineární monoterpeny jsou přítomny v mnoha druzích ovoce, například v pomerančích a citronech, nebo v rzných bylinách (máta, šalvěj). Monocyklické monoterpeny jsou zase běžnou složkou silic, zejména v silici kmínu a mateřídoučky. Známým

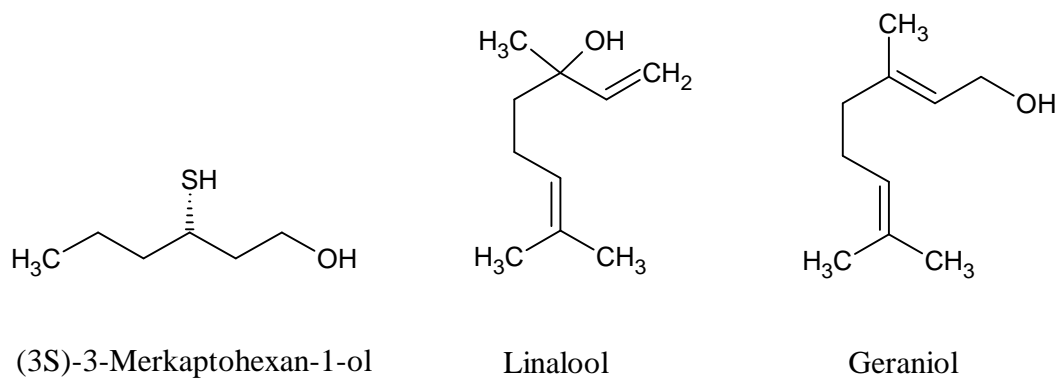
p edstavitelem terpenových uhlovdík je limonen, myrcen, -pinen, -pinen nebo p-cymen. (Obr. 1). [5]



Obr. 1: Strukturní vzorce zástupc terpenových uhlovdík

2.1.2.2 Alkoholy

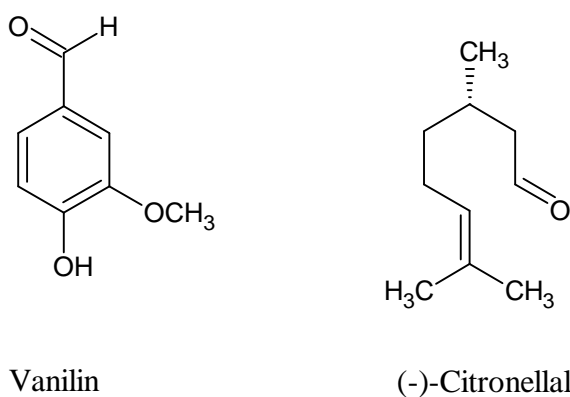
Alkoholy bývají sou částí rostlinných i živočišných produktů. Jako aromatické látky se uplatňují především primární alkoholy a jejich estery. Běžnou složkou parfémů je ethanol spolu s dalšími vyššími alkoholy. Zajímavou vlnou tropického ovoce má například (3S)-3-merkaptohexan-1-ol s thiolovou skupinou (Obr. 2). Přírodními vonnými složkami jsou pak hlavně terpenové alkoholy. Běžně se nacházejí v různých silicích květin a dalších částí rostlin. Vlnou mají typické, sladké aroma v různých tónech. Senzoricky je důležitý například linalool, menthol, geraniol nebo citronellol (Obr. 2). [5]



Obr. 2: Strukturní vzorce zástupců alkoholů

2.1.2.3 Aldehydy

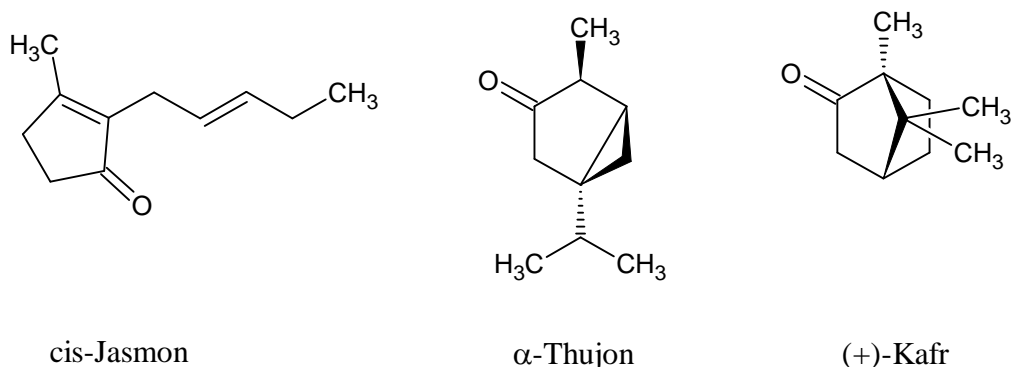
Terpenové aldehydy a ketony se řadí ke klíčovým vonným látkám. Primárně se vyskytují v silicích a vznikají i jako sekundární produkty enzymových a chemických reakcí. Podle svého zápachu mohou být aldehydy fládoucí i nefládoucí složkou. Jako vonné látky mají význam zejména v-echny nasycené alifatické uhlovodíky, z nenasycených jsou dleflité terpenové aldehydy jako citronellal, neral a geraniol (Obr. 3). Rozdílným aromatickým aldehydem je benzaldehyd s mandlovým oděrem nebo heterocyklický aldehyd vanilin (Obr. 3). [5]



Obr. 3: Strukturní vzorce zástupců aldehydů

2.1.2.4 Ketony

Ketony se vyznačují charakteristickým pachem a jsou podobné jako aldehydy sensoricky různorodé. Pro vonění jsou významné opět terpenové ketony. Lze uvést například kafr nebo keton získávaný ze silice jasmínu velkokvětého nazývaný jasmon. Známý terpenový keton je také thujon, který ovšem vykazuje toxické účinky. Levotoaktivní izomer thujonu se vyskytuje v thujích a jalovcích. Vybraní zástupci jsou na obrázku (Obr. 4). [5]



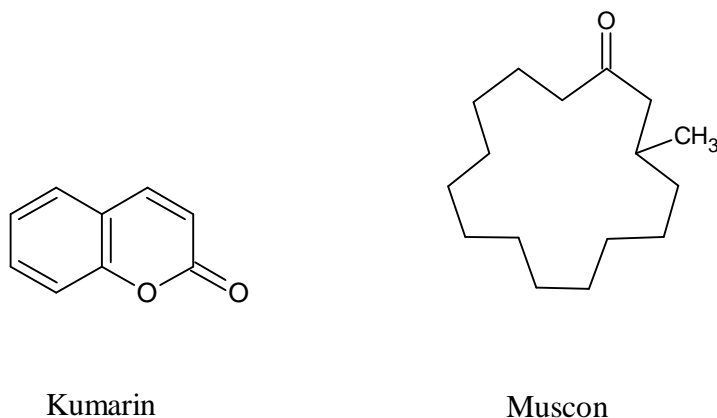
Obr. 4: Strukturální vzorce zástupců ketonů

2.1.2.5 Kyseliny a estery

Karboxylové kyseliny jsou přítomny především v produktech rostlinného původu a uplatňují se hlavně v potravinářství. Jako vonné látky se uplatňují zejména nízké karboxylové kyseliny a aromatické kyseliny. Vonnou charakteristiku mají i některé mastné kyseliny. Mnohé z těchto kyselin jsou také prekurzory celé řady vonných látek, jako jsou estery nebo laktony. K vonným kyselinám patří například kyselina kaprinová (dekanová) s mýdlovým zápachem. [5]

Také estery aromatických kyselin jsou často základní složkou v vůni květin, koření, ovoce a zeleniny. Ovocnou vůni vykazují estery nízkomolekulárních kyselin a alkoholů. Terpenové estery zase voní po květinách. Jako vonné látky jsou nejčastěji estery jednosytných kyselin. K vytvoření těchto balzámových vůní se pak používají estery aromatických kyselin a aromatických alkoholů. [5]

Laktony jsou cyklické vnitřní estery hydroxykyselin. Mezi nejznámější rostlinné laktony patří kumariny (Obr. 5.). Na obrázku 5 je uvedena i struktura makrocyclického laktonu musconu, který se vyskytuje v žloutném sekretu kabara pílmového. [5]



Obr. 5: Strukturální vzorce zástupců esterů

2.2 Rostlinné vonné látky

Pestrá nabídka vonných látek poskytují především rostliny. Vonné esence se získávají z různých rostlinných částí, nejčastěji z květů a plodů, ale také z kořenů, kůry a dřeva. U některých dokonce můžeme pozorovat jev, kdy každá část rostliny poskytuje zcela odlišnou vůni, například květy pomerančovníku voní jinak než zralé plody nebo listy. Rostlinná vůně tedy poskytuje obrovské množství látek, ze kterých se připravují parfémy po celém světě. Po biologické stránce jsou vonné látky rostlin produkovány tzv. sekundárním metabolismem, kdy se jedná o chemicky složitější látky jako jsou glykosidy, silice, balzámy, pryskyřice a terpeny. [6]

Glykosidy jsou organické látky složené z cukru a necukerné části. V kosmetice se uplatňují především saponiny kvůli jejich přítomnosti ve vodě. Některé glykosidy se přidávají i do opalovacích krémů ke zvýšení pigmentace. Terpeny jsou nestálé bezdusíkaté látky, snadno se oxidují a tvoří nerozpustné komplexy. Při zánětech a podráždění kůže se využívají jejich stahovací účinky. [6]

Prysky ice, balzámy a silice jsou pak zájmem ve avká ské výrobě. První dva zmi ované produkty vznikají obvykle po naru-ění povrchových pletiv rostliny a vyskytují se v pevném i polotekutém stavu na rozdíl od silic, které jsou kapalné. Balzámy jsou vlastně prysky ice rozpu-tné v silici a pouffívají se k výrob ěstních vod a zubních past. Prysky ice se v pevném stavu pouffívají jako zápalné vonné sm si nebo se také zpracovávají pro výrobu parfém ě. Nejznám ější jsou ov-ěm vonné rostlinné výtafky obsažené v silicích. [6]

2.2.1 Silice

Silice, často ozna ované jako *éterické* nebo *esenciální* oleje, jsou vysoce koncentrované rostlinné sm si. Jako oleje jsou ozna ovány právě podobně proto, že jsou leh ější než voda a na papí e zanechávají „mastnou“ skvrnu stejně jako potravinářské nebo technické oleje. Rozdíl je ov-ěm v tom, že po určité době skvrna zmizí, nebo silice jsou látky těžké, na rozdíl od olej ě. [7],[8]

Silice jsou kapalné, ve vod ě obtívn ě rozpustné látky lipofilního charakteru. Mají mnohdy pal ěivou chu ě, ale za to příjemné aroma. Vypa ují se při pokojové teplot ě a jsou v určité době rozpustné v organických rozpou-tdlech, jako jsou alkoholy, ethery nebo oleje. Při stání na vzduchu houstnou a př prysky natí. [8],[9]

Silice mají využití i ve farmacii. Mnoho silic má desinfek ční a protizán ětlivé účinky a hojiv ě působí při dýchacích potířích. Některé silice zase napomáhají trávicímu traktu uvol ovat k e ě hladkého svalstva, například he mánková nebo mátová. Silice mohou mít i negativní vliv, a to v případě podrážd ění pokožky, kdy mohou způsobit zarudnutí a puchý e. Ve výjime čných případech mohou ěkodliv ě působit na ledviny. Tento stav bývá spí-ě př echodný a po vysazení přípravku odezní. [7],[8],[9]

2.2.1.1 Výroba silic

Pro přípravu silic se rostliny zpracovávají zejména metodou destilací, mechanickým lisováním, enflouráří nebo extrakcí rozpou-tdlem. Silice lze extrahovat i dalšími technikami například na bázi enzymatického ěpení nebo pomocí oxidu uhli čitého superkritickou fluidní extrakcí. [10]

K nejdéle užívaným technikám patří destilace s vodní parou. Rostlinný materiál se vloží do nádoby, kam se přivádí horká vodní pára. Díky páře vzniká v nádobě tlak a dochází k postupnému uvolnění silničných látek. Vodní pára pak unáší kávě silice a kondenzuje v chladici. Vzniká éterický olej, který má menší hustotu než voda a proto se usadí na povrchu vodné vrstvy, která se oddělí. Získaná přefiltrovaná esence se chrání před světlem, teplem a vzduchem v hermeticky uzavřených nádobách. Zbývá destilát, neboli květová voda obsahující zbytky éterických olejů, je určena k výrobě voňavek nebo pro aromaterapii. Velmi důležitým parametrem tohoto procesu je kvalita vody a také charakter rostliny. Stejná rostlina může poskytovat rozličné kávě silice vlivem rozdílných podmínek pěstování. [11],[12]

Mechanické lisování se používá výhradně pro získávání esencí z citrusových plodů. Slupky obsahují v rostlinných buňkách malé olejové zásobníky, které pod tlakem lisu prasknou a vyloučí pochlazené látky. Lisování za studena je velmi šetrné a hodí se pro rostlinné materiály citlivé na teplo. Esenciální oleje z citronu, grapefruitu, pomeranče, mandarinky a bergamotu se díky svému chemickému složení s velkým podílem monoterpenů rychle kazí a vydrží maximálně jeden rok. [11],[12]

Enflueráží je starý způsob získávání silice. Na skleněnou desku se aplikuje tenká vrstva živočišného tuku, na kterou se pokladou květy rostlin. Sorpce kávých silic do organického materiálu probíhá 12 hodin, přičemž se proces opakuje až 36krát. Vonné látky přecházejí do tuku a posléze se extrahují do lihu. Po odpaření rozpouštědla pak zůstane čistý éterický olej. Proces se dnes pro svou náročnost uplatňuje jen zřídka. Pokud ovšem chceme skutečně vytvořit výjimečný parfém, je enflueráží patřičná citlivá technika. Hodí se pro vzácné květy jasmínu, tuberózy, fialky a narcisu. [11],[12]

Při *extrakční metodě* se na rostlinné části přisobí vhodným organickým rozpouštědlem. Hojně se používá pro zpracování květů ve velkém množství. Extrahuje se pomocí nízkovroucích rozpouštědel jako je hexan, benzol, petroleter, ethanol a další. Květy se promývají v extrakční aparatuře a pak se silicemi nasycené rozpouštědlo oddělí a při parciální destilaci se získá vonný olej. V profesionální lékařské aromaterapii se však tento extrakt silice nepoužívá, neboť v oleji mohou zůstat nežádoucí zbytky rozpouštědel. [11],[12]

2.3 *pivo iýné v n*

K flivo i-ným vonným produkt m pat í p edev-ím piflmo, jakoflto nejznám j-í a nejdéle pouflíváný flivo i-ný sekret. Podobné piflmové produkty vlastní i jiní flivo ichové nebo dokonce rostliny, v n bývají ov-em mén intenzivní a tedy mén hodnotné pro výrobu parfém . Z í-e zví at je také velmi známá ambra, cibet nebo bob ina.

2.3.1 *Piýmo*

Termín „muskõ, esky piflmo i zastarale mo-us, p vodn ozna uje siln páchnoucí látku, která je obsaflena v sam ích pohlavních flázách kabara piflmového (*Moschus Moschiferus*). Vým -ek fláz byl po staletí pouflíván p i výrob parfém a vo avek a dnes je jifl výhradn nahrazován syntetickými látkami. [3]

flivo i-né piflmo je velmi sloflitý soubor komponent a je obvykle popisováno r znými v n mi. Obecn se jedná o velmi silnou zemitou afl d evnatou animální v ni s-írokým spektrem vonných tón . M fleme cítit smysln sladké, krémové afl koflovité, pikantní i lesnaté noty. Pro n koho m flé být v n piflma nevábna afl odpudivá. [13]

2.3.1.1 *Historie*

První zmínky o pouflívání piflma se objevují ufl v 6. století na-eho letopo tu v Byzantské í-i a Arabském sv t . Vonné látky tehdy pat ily k vysoce cennému zboží, staly se symbolem bohatství a luxusu, stejn jako ko ení nebo drahé tkaniny. Piflmo se d íve pouflívalo i pro své lé ebné ú inky. Lé ítelé jej aplikovali p i onemocn ních srdce, p i psychických a neurologických poruchách a proslavilo se p edev-ím jako afrodisiakum. Pí-e se, flé se orientálním kurtizánám p idávalo piflmo do jídla, aby p i milostných hrátkách vydávaly sv dné aroma. Chemické sloflky obsaflené v piflmu se totiž velmi podobají lidským feromon m, zejména muflskému pohlavnímu hormonu testosteronu, proto je piflmo z ejm ufl od dávných dob lov kem velmi p itahováno. K ífláci nakonec p inesli piflmo i do Evropy. Zde bylo uplat ováno rovn fl jako lé ivo, stejn tak jako sloflka do parfém .[3],[14]

Obchodování s piflmem v Afgánistánu, Bhútánu, Indii, Maynmaru, Nepálu a Pákistánu je zakázáno od roku 1979 organizací CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora). Navzdory t mto p edpis m jsou v-ak kaba i piflmoví stále

v ohrožení. Dodnes je pravé piřlmo pouřříváno v tradi ní ěínské medicín ě v nemalém mnořřství. Pro výrobu lé ěiv se spot ebuje ařl 1000 kg piřlma ro n ě, cořl má za následek úmrtí 100 000 zví at. V Evropské unii je obchod s piřlmem zakázán od roku 1999. [3]

2.3.1.2 Kabar piřlmový

Pro p ěřpravu parfém se pouřřívalo piřlmo, zřřskávané z pohlavních řřláz kabar piřlmových, tzv. pravé piřlmo. Tuto vzácnou látku produkují samci kabar piřlmových, p edev ěím v období řřje. Díky vylu ovanému sekretu spolu kaba ěi komunikují a pá ěí se. Tzv. „mo-řřusověř flázy kabar ě jsou umíst ěny na vnit ní stran ě b ěicha a mají tvar malých vá k ě. Jejich obsahem je ěrveno-hn ědá voskovitá tekutina, zvaná piřlmo (mo-řřus). Kaba ěi piřlmoví (Obr. 6.) pat ěí do řřádu sudokopytnřřk ě a velikostí odpovřřdají na ěmu srnci. P ěirozen ě se vyskytují v horských oblastech a tajgách na Sibi ěi, v Mongolsku a v Koreji. Blřřzkě druhy řřlijí také v poho ěí Himalájí a na severu Indie. Jedná se o zví ata plachá, řřlijící v t ěinou samotá sky. B ěhem dne se ukrřřvají v hustých porostech, ařl v noci se odvřřřlěí do volné krajiny. řřiví se li ěejnřřky, mechem, rostlinnými vřřhonky, v tvi kami a jinými rostlinami. Hlavním znakem kabar ě jsou jejich zahnutě horní tesáky, které mohou břřt ařl 10 cm dlouhé. [15]



Obr. 6: Kabar piřlmový [16]

Pro zřřskání piřlma bylo tehdy nutné kabara zabít. Po n ěkolik staletí byli kaba ěi kv ěli této omamné látce pronásledováni a hubeni. Pro zřřskání vřřym ěku totifl bylo nutné kabara

zabít a pohlavní flázy vyjmout. Voskovitý vým –ek byl posléze sušen, a vznikla černá jemná zrnka. Z granulek vysušeného píflma se připravil alkoholický roztok, který se dále zpracovával. Teprve po výrazném zednění byl získán příjemný vonící extrakt. [3]

Dodnes je pravé píflmo používáno v tradiční čínské medicíně, a proto jsou kaba i ve volné přírodě stále v ohrožení. V současné době však existují postupy extrakce píflma i bez zabíjení živých jedinců. Nové způsoby byly úspěšně testovány a prováděny v ZOO Kathmandu v Nepálu. Extrakční metoda spoívá v odběru píflma z váku pomocí sterilních nástrojů a následnou aplikací antibiotické masti. Celá operace trvá asi 15 minut a podle studie nenarušuje zdraví zvířete. Podobné farmy jsou založeny i v Indii a Indii. [3],[17]

V dobách největší poptávky po píflmu, kdy jeho cena byla mnohdy větší než cena zlata, bylo na asijském kontinentu loveno asi 400 tisíc zvířat ročně. Až na konci 19. století, kdy se objevilo první syntetické píflmo, se jejich lov zmírnil a kaba i mohli přežít. [18]

Píflmo je dodnes velmi vzácná a drahá substance. Cena jednoho kilogramu se pohybuje kolem 50 tisíc amerických dolarů. [15]

2.3.2 Ostatní produkty

Mezi přírodní píflma přidáme i látky jiných živočichů nebo rostlin. Jedná se o látky pravému píflmu podobné svou vůní, mnohdy jsou označovány jako píflma falešná. K takovým živočichům patří cibetka, která byla pro svůj sekret rovněž dlouhá léta lovena. Malá, ličce podobná kočka žije v Africe a Asii. Vým –ek podčasné flázy je označován jako **cibet**. [7]

Zajímavým produktem živočišné půdy je vým –ek, tvořící se v trávicím traktu vorvan obrovského, zvaný **ambra**. Je to –edobílá, voskovitá hmota s pronikavým až nepříjemným zápachem. Obvykle ji vorva vyvrhne do moře a lze ji najít u pobřeží, zejména v Irsku. Ambra podobná jako píflmo způsobuje trvanlivost a stálost vůně. Surovinou pro výrobu parfémů jsou i vým –ky bobra evropského, zvané **bobina**, latinsky *castoreum*. Zvířecí „píflmové“ sekrety poskytuje mnoho dalších živočichů, například píflmová, píflmo severní nebo kachnice laloňatá. Píflmové látky ovšem najdeme i u hmyzu, například u tesařky píflmového. [7],[14]

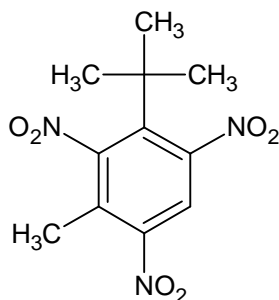
Rostlinnou vůni zastupuje známý ibi-ek pířmový nebo rostlinka se zcela p řízným názvem pířmovka mo-usová. Drobná bylina roste volně na českém území. Z jejich listů a květů lze ucítit zápach po pířmu. [19]

2.4 Syntetické vonné látky

Syntetické vonné látky se ve velkém množství vyrábí po celém světě a nahrazují mnohdy velmi vzácné rostlinné a živočišné materiály. Tato práce se zamůže na syntetická pířma, jakofito analoga k p řírodnímu pířmu, která se rozdělují do čtyř skupin. Patří sem nitrovaná, polycyklická, makrocyklická a lineární pířma.

2.4.1 První syntetické pířmo

Bohatství ukryté v pohlavních flázách kabař pířmových a jiných živočichů se stalo po několik staletí symbolem vysoké výroby. Z hlediska vysoké ceny a omezené dostupnosti však nebylo možné získávat pířmo p vodním způsobem. P říznivou zprávou se stalo objevení prvního syntetického pířma. V roce 1888 se podařilo Albertu Baurovi chemickou cestou připravit látku, která výrazně ovlivnila parfémový průmysl. Baur se v noval syntéze výbušnin, připomínající povímle, flé jeden z produktů, nitrovaný *meta-terc-butyl toluen*, byl silně cítit pířmovou vůní. Vyrobená látka, označovaná jako Baurovo pířmo, se vzápětí stala rovnocennou náhrafkou živočišných produktů. Během 20. století byly syntetizovány další podobné látky, dnes známé jako „muskové sloučeniny, obecně nazývané syntetická pířma, syntetické analoga pířma, syntetické mo-usové látky a podobně. Mezi první komerčně vyráběnou skupinu syntetických pířem patřila nitropířma. [3]



Obr. 7: Baurovo pířmo

2.4.2 Výroba a pouřítí

Ve velkých objemech se syntetická pířma komerčně produkují uřln kolik desítek let po celém sv t . Pouřívají se v široké škále pířpravk osobní pé e a isticích prost edk . K nejstarším slou eninám pat í nitrovaná pířma, která dlouho dominovala na sv tovém trhu. Kv li pochybnostem z toxikologických ú ink se v ak jejich podíl od roku 1983 trvale sniřuje. V roce 1987 se vyrobilo 7000 tun veškerých syntetických pířem, z nichř 61% polycyklických, 35% nitrovaných a 3-4% makrocyklických slou enin. [3]

Nejvtí produkci dnes zaujímají pířma polycyklická. V roce 2000 se jich celosv tov vyrobilo p ibliřn 4000 tun, p i emř v Evrop se vyrobila tém polovina. Zatímco výroba ostatních pířem byla menší neř 20 tun. Mezi nejbřn jší vyráb ná pířma pat í galaxolid, tonalid, xylenové pířmo a ketonové pířmo. Tito ty i zástupci zaujímají celkem 95% evropského trhu se syntetickými pířmy. [20]

Syntetická pířma mají relativně nízké náklady na výrobu. Z tohoto řvodu jsou pouřívány v mnoha spot ebních produktech, jako jsou mycí a isticí prost edky, prací prá-ky, aviváře, osv řova e vzduchu a zejména produkty osobní pé e „PPCPøš (Pharmaceutical and Personal Care Products) kam pat í kosmetika, krémy, řampony, ple ové vody, deodoranty a další. V tina z t chto pířpravk obsahuje ř zné typy zmi ovaných slou enin. [21]

2.4.3 Obecné vlastnosti

V této podkapitole jsou popsány vlastnosti týkající se pouze nitrovaných a polycyklických pířem, nebo mají podobný chemický a fyzikální charakter. Syntetická pířma

makrocyclická a lineární se od výše zmíněných pířem pon kud li-í a jejich vlastnosti jsou popsány pozd ji v samostatných podkapitolách.

Syntetická pířma, my-ěno nitrovaná a polycyclická, jsou v t-ínou pevné krystalické látky nebo kapaliny nasládlé v n . Se svojí molární hmotností v rozsahu 200 ařl 300 g.mol⁻¹ se adí mezi semivolatilní organické látky. Podstatným znakem je jejich lipofilita, což se odráří ve vysokých hodnotách rozd lovacího faktoru ($\log K_{ow} = 4,3 \text{ ó } 6$). Syntetická pířma mají nepolární charakter, jsou omezen rozpustná ve vod a dob e rozpustná v organických rozpou-t dlech. Jsou schopna se akumulovat v tucích a adsorbovat se na organické hmoty. Chemicky se jedná o velmi stabilní látky odolné v í rozkladu. Tato vlastnost je fládoucí práv pro zachování v ní v parfémeh po dlouhou dobu. Jako fixátory v ní zpomalují uvol ování t kavých slořek parfému, což je v parfumá ství velmi cen no. Syntetická pířma se díky svým vlastnostem adí mezi relativn nové POPs (Perzistent Organic Pollutants). [22]

Do řivotního prost edí (řiP) se dostávají prost ednictvím komunálních a pr myslových odpadních vod, p í emřl v OV dochází pouze k áste né eliminaci t chto látek. Syntetická pířma jsou tak b řinou slořkou efluent zne is ující vodní ekosystém. I v nepatrných koncentracích jsou prakticky v-udyp ítomná. Vyskytují se ve v-ech slořkách řiP, p edev-ím ve vodních tocích, vodních organismeh, ale také v lidských tkáních. Zejména nitrovaná a polycyclická pířma se vyzna ují vysokým stupn m bioakumulace a perzistencí. [23]

2.4.4 Toxicita a výskyt v lidském t le

Z hlediska zdraví jsou tyto látky potencionáln velmi nebezpe né. Bylo prokázáno, ře syntetická pířma naru-ují endokrinní systém, po-kozují tedy hormonální funkce a také mohou vyvolávat astma. Interference s hormony byla prokázána u ryb, obořřivelník a savc . Estrogenní aktivita galaxolidu a tonalidu je u savc relativn slabá. Výstrařnou zprávou je ale možný pozitivní vztah mezi gynekologickými potířemi a hladinou xylenového a ketonového pířma v krvi, i když p í inná souvislost nebyla prokázána. [21],[24],[25]

Hlavní cesty expozice jsou perorální p íjem, dermální expozice a inhalace. Nejdiskutovan j-í je p íjem k ří vřhledem ke kosmetickým p ípravk m aplikovaných p ímo na pokořku. Inhalace dýchacími cestami muře být také kritická. Perorální p íjem je spojován zejména s podáváním kontaminové vody. Po vst ebání nitrovaných pířem do organismu m ře docházet i k jejich biotransformaci. Vzniklé aminoderiváty byly nalezeny v lidské mo i i ve

stolici a bylo zjištěno, že se váže na hemoglobin. Studie z roku 1994 zjistila přítomnost nitropfenem v lidské tukové tkáni a v mléce. Koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 0,01 do 0,22 mg/kg ve vzorku tukové tkáně a od 0,01 do 0,19 mg/kg v mateřském mléce. [21],[26]

Vzhledem k jejich bohatému zastoupení v domácnostech má téměř každý jejich minimální koncentraci v krevním oběhu, což dokazují i výsledky studie z roku 2009, kdy byla analyzována krev stovek studentů Lékařské Fakulty univerzity ve Vídni. Téměř všichni dobrovolníci vykazovali pozitivní nález. Galaxolid byl průměrně přítomen v koncentraci 420 ng/l a xylenové píflmo v koncentraci 11 ng/l. [18],[27]

2.4.5 Výskyt v pP

V důsledku jejich rozsáhlého používání jsou distribuovány ve všech složkách životního prostředí, a to zejména ve vodním ekosystému a v ovzduší. Dlouhodobé přetrvávání v životním prostředí bylo zkoumáno ve studii z roku 2003 zadané organizací Greenpeace. Zjistilo se, že 34% vzorků dešťové vody obsahuje ambretové píflmo, i přesto, že je již od roku 1995 Evropskou Unií zakázáno. [25]

Syntetická píflma se do životního prostředí dostávají zejména skrze odpadní vody z domácností, průmyslových podniků, terciárního sektoru apod. Ze studie provedené v Brně v roce 2010 se v odpadní vodě odebrané v OV Brno-Modice zjistilo, že největší podíl syntetických píflmů v životním prostředí mají píflma polycyklická. Průměrné koncentrace nalezené v surové odpadní vodě a na odtoku z OV za měřicí únor společností čistícího procesu jsou uvedeny v tabulce (Tab. I.). [28]

Tab. I.: Koncentrace syntetických píflmů ve vzorcích z OV (Brno-Modice)

	Surová odpadní voda (ng/l)	Odtok z OV (ng/l)	Účinnost OV
Galaxolid	2284	1231	46,1 %
Tonalid	422,8	143,6	66 %
Xylenové píflmo	91,56	20,22	77,9 %
Ketonové píflmo	90,59	55,22	39 %

2.5 Syntetická piňma a jejich rozd lení

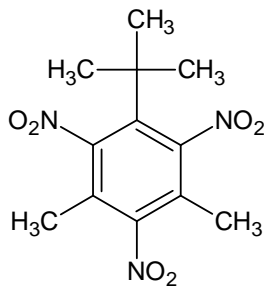
Syntetická analoga piňma tvo í adu definovaných chemických látek s odli-nými strukturami, a proto je klasifikujeme do n kolika skupin. Mezi historicky nejstar-í pat í nitrovaná a polycyklická piňma. K nov j-ím adíme piňma makrocyklická a lineární. Zástupci prvních dvou skupin stále pat í mezi nejpoužívan j-í mo-usové látky v pr mysle, jsou nejvíce prozkoumány a prozatím mají nejv t-í dopad na flivotní prostředí. A protože jsou také zájmem této práce, bude jim v následujících kapitolách v nována v t-í pozornost.

2.5.1 Nitrovaná piňma

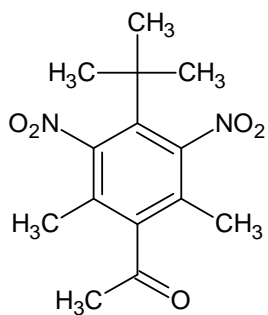
Nitrovaná piňma byla první skupinou komer n vyráb ných syntetických piňem. Éra t chto slou enin za ala objevem Baurova piňma na konci 19. století, které nahradilo vzácné piňmo flivo i-né. Od té doby vzniklo n kolik dal-ích podobných slou enin. [3]

Sv j název dostala díky chemické struktu e se dv ma afl t emi nitroskupinami navázanými na aromatické jádro. Nitroderivát je dále substituován alkyl, keto nebo methoxy skupinami. Jejich struktura je naprosto odli-ná od p írodního piňma, poskytují ov-em podobné v n . Nejvíce se v ni pravého piňma p iblífuje ketonové piňmo. Ambretové piňmo zase p ipomíná v ni ambretového semínka. [3]

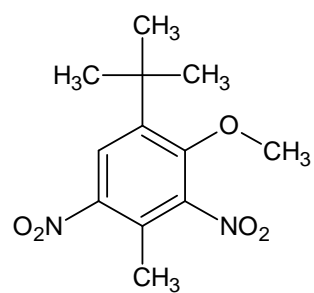
Mezi nejznám j-í nitrovaná piňma pat í xylenové piňmo, ketonové piňmo, ambretové piňmo, tibettenové piňmo a moskenové piňmo. Struktur ní vzorce jsou znázorn ny na obrázku (Obr. 8), p i emfl u n kterých názv je uvedena b fln používaná zkratka. Systematické názvy a n které vlastnosti nejvýznamn j-ích zástupc jsou uvedeny v tabulce (Tab. II). [3]



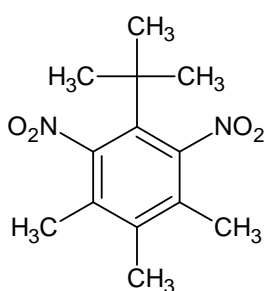
Xylenové pířmo (MX)



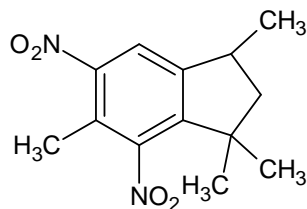
Ketonové pířmo (MK)



Ambrettové pířmo (MA)



Tibettenové pířmo



Moskenové pířmo

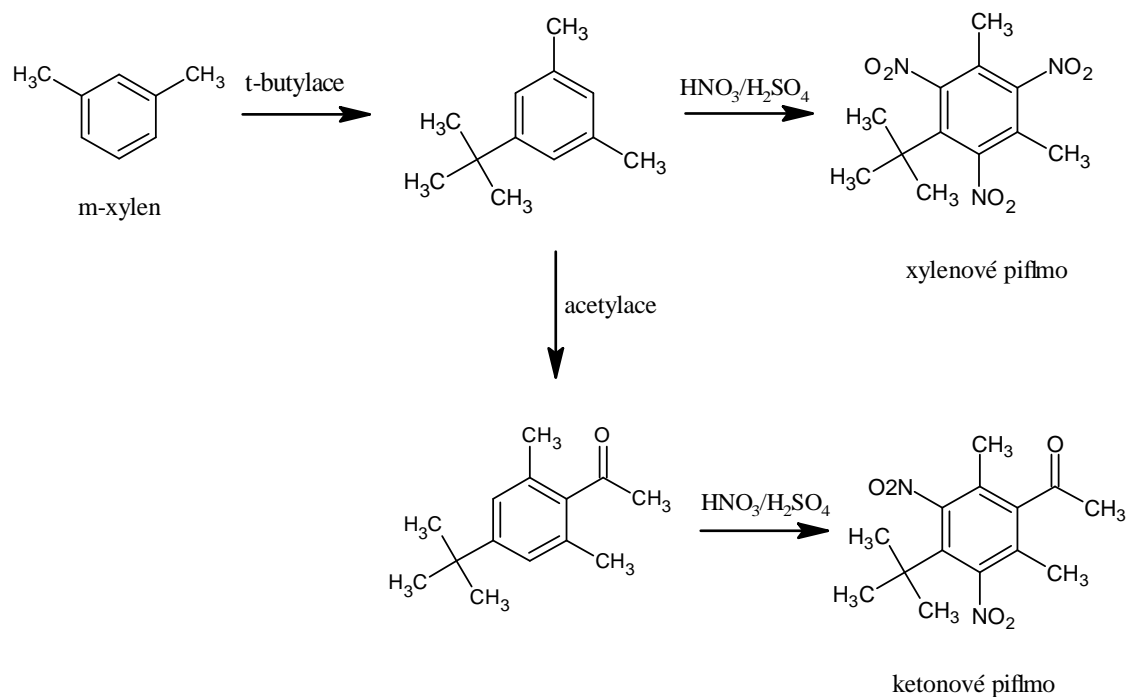
Obr. 8: Strukturńí vzorce zástupců nitrovaných pířem

Tab. II: Přehled názvů a vybraných vlastností nitrovaných pířím [29],[30]

	Xylenové pířím (MX)	Ketonové pířím (MK)	Ambretové pířím (MA)
Systematický název	1-tert-butyl-3,5- dimethyl-2,4,6- trinitrobenzene	1-(4-tert-butyl-2,6- dimethyl-3,5- dinitrophenyl) ethanone	1-tert-butyl-2- methoxy-4-methyl- 3,5-dinitrobenzene
Další názvy	Musk xylene Musk xylol	Musk ketone Ketone Moschus	Musk ambrette Ambrette
CAS	81-15-2	81-41-1	83-66-9
Sumární vzorec	$C_{12}H_{15}N_3O_6$	$C_{14}H_{18}N_2O_5$	$C_{12}H_{16}N_2O_5$
Molární hmotnost (g.mol⁻¹)	297,3	294,3	268,3

2.5.1.1 Chemická syntéza

Xylenové a ketonové pířím se připravuje terc-butylací m-xylynu a následnou nitrací, v případě ketonového píříma předchází nitraci jeť acetylace. Další nitromořisy se připravují podobnými kombinacemi. Na obrázku 9 je uvedeno reakční schéma přípravy xylenového a ketonového píříma. [31]



Obr. 9. Reakční schéma výroby xylenového a ketonového piřfma

2.5.1.2 Produkce

Nitropiřfma dominovala na volně obchodovaném trhu desítky let vzhledem k jejich snadné a levné výrobě. Nicméně od roku 1983 jejich produkce významně klesala, neboť bylo zjiřeno, že ambretové piřfmo vyvolává u člověka fotoalergickou reakci. O dva roky později bylo organizací IFRA (International Fragrance Association) doporučeno tuto látku v přípravcích aplikovaných na kůži nepoužívat. V roce 1995 po silné fotoalergické reakci bylo v Evropské unii ambretové piřfmo úplně zcela zakázáno. Moskenové a tibetenové piřfmo bylo později rovněž zahrnuto na seznam nepovolených látek. [3]

Přesto jsou nitrovaná piřfma stále vyráběna ve velkém množství především v Indii a Indii, odkud jsou distribuována do celého světa. [24] Výroba nitrovaných piřfem se dnes pohybuje ve stovkách tun ročně. V roce 2004 byla jejich celosvětová produkce přibližně 1000 tun za rok. Nejprodukovanějším piřfmem byl v 67% musk xylen, v 21% musk keton a v 12% musk ambrette. Nitrovaná piřfma se uplatují zejména v kosmetice, v technické drogerii, ale byly nalezeny i v cigaretách. [32]

V roce 1992 bylo v německé studii analyzováno několik vzorků levné kosmetiky a čistících prostředků. Nitromosy byly obsaženy v 55% zkoumané kosmetiky a ve 41,5% detergentů. Koncentrace musk ketonu, používaného v kosmetice, se pohybovala v širokém rozmezí od 4 do 2200 mg/kg. V detergentech byl přítomen především musk xylen. Musk ambrette byl stanoven pouze v jednom přípravku. [3]

S xylenovým pířmem se může setkat především v čistících prostředcích, textilních zmořkovanadlech a osvěřovařích vzduchu. [18]

2.5.1.3 Výskyt, toxicita a osud v fiP

Poprvé bylo xylenové a ketonové pířmo detekováno v roce 1981 ve vodě a rybách v Japonsku, což vedlo k první úvaze o jejich biologické nerozlořitelnosti. V dalších letech byla nitrovaná pířma identifikována ve vodní biotopě celém světě a posléze i v lidském těle. [3]

Vonné chemikálie byly nalezeny v lidských tukových tkáních a v mateřském mléce. Laboratorní studie na zvířatech dále prokázaly, že ambretové pířmo má neurotoxické účinky, které způsobují změny v mozku, míše a periferních nervech. Xylenové pířmo rovněž vzbuzovalo velké obavy, neboť se prokázalo jako myšičí karcinogen a od roku 1982 přestalo být používáno japonskými výrobci. [24],[33],[34]

Ve studii zaměřené na genotoxické a mutagenní účinky nitrovaných pířmem bylo zjiřtěno, že mutagenní aktivitu vykazuje pouze musk ambrette. Tento účinek způsobuje pravděpodobně přítomnost methoxy skupiny na aromatickém jádře. [35]

Xylenové pířmo bylo v mnoha studiích sledováno jako obzvlášť toxické pro ryby a ne zcela bezpečné pro člověka. ECHA (Evropská agentura pro chemické látky (ECHA) označila musk xylen za látku vzbuzující obavy z neřádoucích účinků na fiP a lidské zdraví. Akutní toxicita xylenového pířma zjiřtěná z testů na laboratorních zvířatech je sice nízká (LD₅₀ řádově v g/kg), ale látka je karcinogenní pro myšičky a její dlouhodobé působení na člověka, zejména v prenatálním a raném postnatálním období není úplně známo. [18]

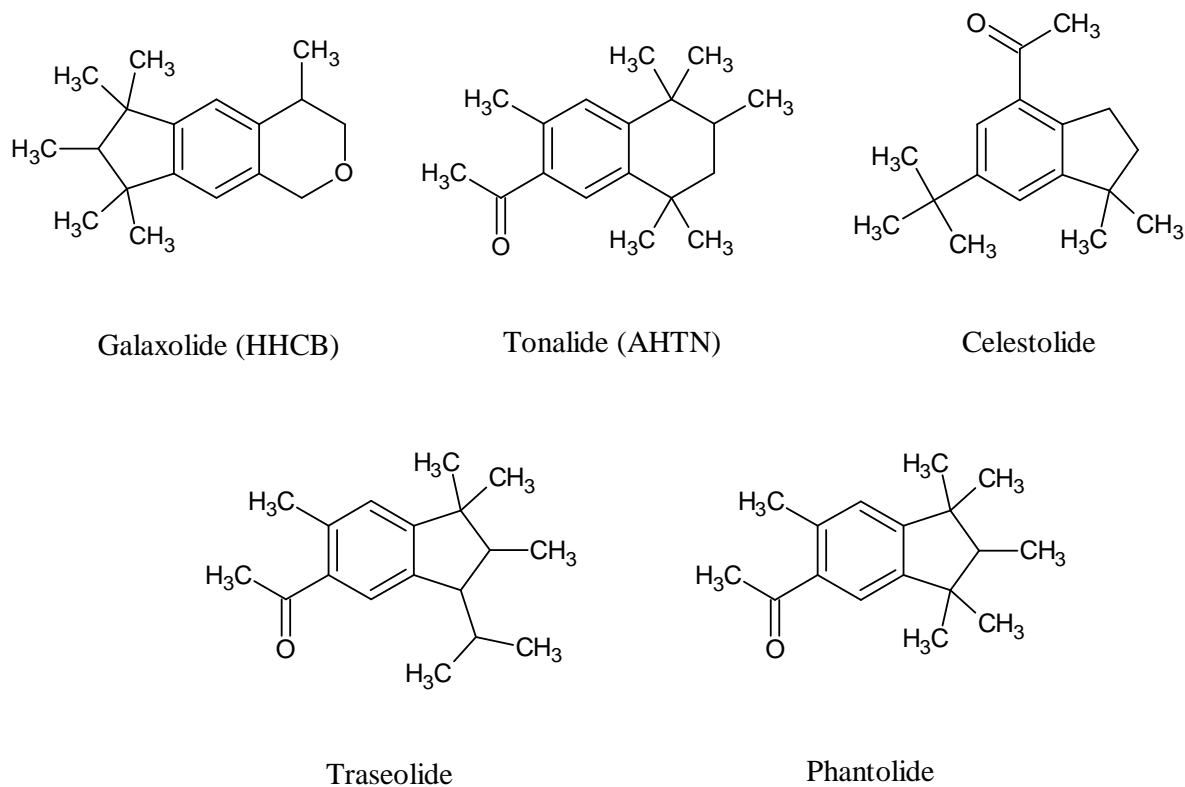
Ketonové pířmo bylo nalezeno ve vodním prostředí, konkrétně v povrchových vodách, sedimentech a rybách. Několik studií poskytlo údaje o tom, že toto pířmo je silným induktorem enzymové fáze u hlodavců a vykazuje kogenotoxicitu i v experimentech in vitro

na lidských buňkách v poměrně malých dávkách. To naznačuje, že expozice ketonového píflma může zvýšit náchylnost ke vzniku rakoviny. [36]

V OV jsou nitroaromy odstraňovány pouze částečně, v rozmezí 10 až 80%. Při čistícím procesu se adsorbují na povrch čistírenských kalů, případně mohou docházet i k jejich metabolizaci. Nitrované aromáty se během anaerobní úpravy vody mohou redukovat na polární aminy a spolu s povodními sloučeninami, které se v procesu OV nezachytí, putují do vodního prostředí, odkud se primárně distribuují do všech slovků říční. [37]

2.5.2 Polycyklická píflma

Polycyklická píflma byla syntetizována v padesátých letech 20. století. Postupně nahradila stávající nitrovaná píflma kvůli jejich obavám z toxických účinků na životní prostředí. [38] Příklad se jednalo o toxicitu ambretového píflma, které se jako první prokázalo nečekanými fotosenzitivními účinky. K běžně používaným polycyklickým píflmům patří galaxolid, tonalid, celestolid, traseolid a phantolide. Dále bychom mohli zmínit versalid nebo cashmeran. Strukturální vzorce a zkratky názvů jsou uvedeny na obrázku (Obr. 10). [3] Systematické názvy a jejich vlastnosti nejvýznamnějších zástupců jsou uvedeny v tabulce (Tab. III).



Obr. 10: Strukturní vzorce zástupce polycyklických pířem

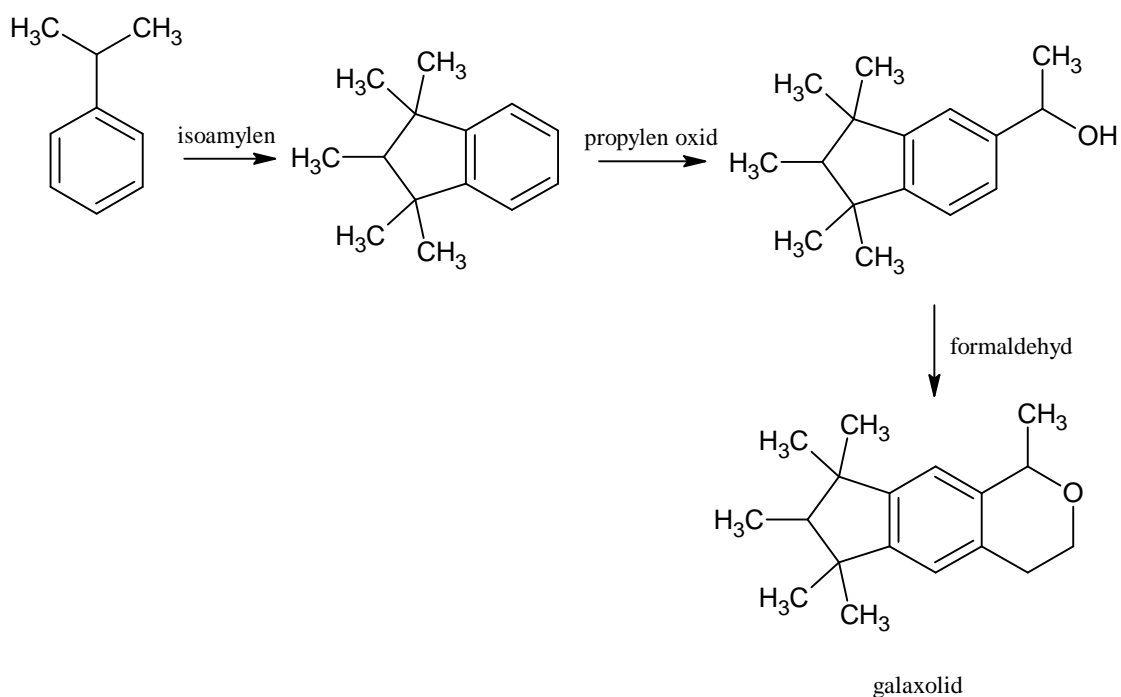
Tab. III: P ehled názv a vybraných vlastností polycyklických pířem [29],[30]

	Galaxolid (HHCB)	Tonalid (AHTN)	Traseolid
Systematický název	4,6,6,7,8,8- hexamethyl-1,3,4,7- tetrahydrocyclopenta [g]isochromene	1-(5,6,7,8-tetrahydro- 3,5,5,6,8,8- hexamethyl-2- naphthyl)ethan-1-one	1-(3-Isopropyl- 1,1,2,6-tetramethyl- 2,3-dihydro-1H-inden- 5-yl)ethanone
CAS	1222-05-5	1506-02-1	68857-95-4
Sumární vzorec	$C_{18}H_{26}O$	$C_{18}H_{26}O$	$C_{18}H_{26}O$
Molární hmotnost ($g \cdot mol^{-1}$)	258,4	258,4	258,4

2.5.2.1 Chemická struktura

Ve své molekule na rozdíl od svých předchůdců postrádají nitro skupinu a podle chemické povahy je rozdělujeme na indanové, tetralinové, tricyklické a kumarinové deriváty. Struktura polycyklických pířem je opticky zcela odlišná od struktury pířma pírodního. Nejvíce komerční uplatnění má galaxolid, který se společně s tonalidem drří na prvních dvou pířkách pířmyslové výroby se syntetickými pířmy. [31]

Syntéza galaxolidu spoívá ve třech elektrofilních adicích. Výchozí látkou je kumen, který lze snadno získat jako meziprodukt píř syntéze acetonu a fenolu z benzenu a propylenu. Nejdříve se na kumen aduje isoamylen za vzniku pentamethylindanu, který následně reaguje s propylenoxidem. Posledním krokem je reakce s formaldehydem pířes hemiacetal za vzniku pířslušeného isochromanu (Obr. 11). [31]



Obr. 11: Reakční schéma výroby galaxolidu

2.5.2.2 Produkce

První polycyklické píflmo bylo syntetizováno v roce 1951 a bylo pojmenováno jako Phantolide. Poté se pokračovalo přípravou dalších desítek látek. Pro své atraktivní vlastnosti jsou tato píflma významně upotřebována v průmyslu. Oproti nitrovaným jsou navíc odolnější vůči rozkladu světlem a lépe se váflou na tkané látky, proto se používají hlavně do parfémů a pracích prostředků. Největší oblibu získala píflma galaxolid a tonalid. [3]

Polycyklická píflma jsou považována za základní složku mnoha výrobků. Až 95% trhu se syntetickými píflmy pokrývají právě tyto chemikálie. Polycyklická píflma se používají téměř ve všech spotřebitelských výrobcích, jako jsou parfémy, kosmetika, mýdla, šampóny, prací prášky, aviváže, čistící prostředky, osvěžovače vzduchu a další výrobky pro domácnost. V roce 1996 byl celosvětový objem výroby polycyklických píflmů, hlavně galaxolidu a tonalidu, odhadnut na 5600 tun za rok. [39]

V analýze kosmetiky a detergentů v roce 1994 a 1995 bylo zjištěno, že koncentrace galaxolidu se v těchto přípravcích pohybuje v rozmezí 0,5 až 500 mg/kg, v případě tonalidu pak 1,1 až 520 mg/kg. Další polycyklická píflma pak byla přítomna prakticky v nevýznamných koncentracích. [3]

2.5.2.3 Výskyt, toxicita a osud v životní prostředí

V mnoha studiích bylo zjištěno, že polycyklická píflma jsou v poměrně vysokých koncentracích přítomna v odpadních vodách a čistírenských kálech. Studie dále potvrzují, že v OV dochází pouze k částečnému odstranění těchto látek, podobně jako u píflmů nitrovaných. Jsou tedy kontaminanty nejen vodních zdrojů a vodní bioty, ale také atmosféry, do které se dostávají díky jejich letkavosti. [40],[41]

V současné době tvoří polycyklická píflma největší podíl ze syntetických píflmů v životním prostředí. Jsou obsažena téměř všude. Nacházejí se v povrchových vodách, pevných částicích a sedimentech, ve vzduchu, v odpadních vodách a kálech, ve vzorcích rostlin a živočišných tkáních (krevety, ryby, mušle) a konečně v lidském organismu. Tento výskyt naznačuje, že polycyklická píflma mají značný vliv na životní prostředí a díky jejich bioakumulativnímu chování se dostávají i do lidského těla a jejich celková koncentrace

v řivotním prost edí nar stá. Koncentrace galaxolidu a tonalidu byly patrné i v mo ské vod v jednotkách ng/l. [42],[43]

Obsah galaxolidu a tonalidu je ve slofkách fiP ve srovnání s nitrovanými piřmly obvykle vy—í. Studie zkoumající toxicitu polycyklických piřlem uvád jí adu ú ink . Vývojová toxicita byla pozorována u mo ského korý—e po vystavení polycyklickým piřm m p i nízkých koncentracích. Bylo také prokázáno, že polycyklická piřma vykazují estrogení a anti-estrogení aktivitu, což bylo zkoumáno na řáb drápatce vodní, pstruzích a také na lidských embryonálních bu kách. Reproduk ní a fetální vývojová porucha byla zji—t na u potkan , kdy jim byl galaxolid podáván oráln p i dávce 500 mg/kg hmotnosti potkana denn . Byla pozorována i zvý—ená proliferace lidských rakovinotvorných bun k v rámci rakoviny prsu p i expozici AHTN. Pozornost t mto látkám je tedy na míst . [44]

Jako p íklad kontaminace í ní vody a vodní bioty polycyklickými piřmly lze zmínit analýzy provedené na ece Hudson v USA. Tato práce poukazuje na reálné koncentrace galaxolidu a tonalidu p ítomných jak v í ní vod , tak i v sedimentech a rybí tkáni (Tab. II). [43]

Tab. IV: Koncentrace galaxolidu a tonalidu ve vzorcích z eky Hudson (USA)

	í ní voda (ng/l)	Sediment (ng/g su-iny)	Ryby (ng/g tuku)
Galaxolid	3,95 - 25,8	72,8 - 388	1 - 125
Tonalid	5,09 - 22,8	113 - 544	1 - 32,8

2.5.3 Makrocyklická piřma

Vývoj makrocyklických piřlem začal uřl v roce 1926 izolací musconu a civetonu ze sekretu kabara piřmového a cibetky africké. Jsou tak rovnocenné se strukturou p írodního piřma. O objasn ní struktury t chto látek se zaslouřil chorvatský chemik s eskými ko eny Leopold Ruffi ka. Díky tomuto objevu bylo mořné vyráb t látky synteticky. [31]

Bylo zji—t no, že p írodní piřma jsou makrocyklického charakteru s ketonovou nebo laktonovou skupinou. Ketonová skupina je charakteristická pro řivo í—né piřmo a laktonová

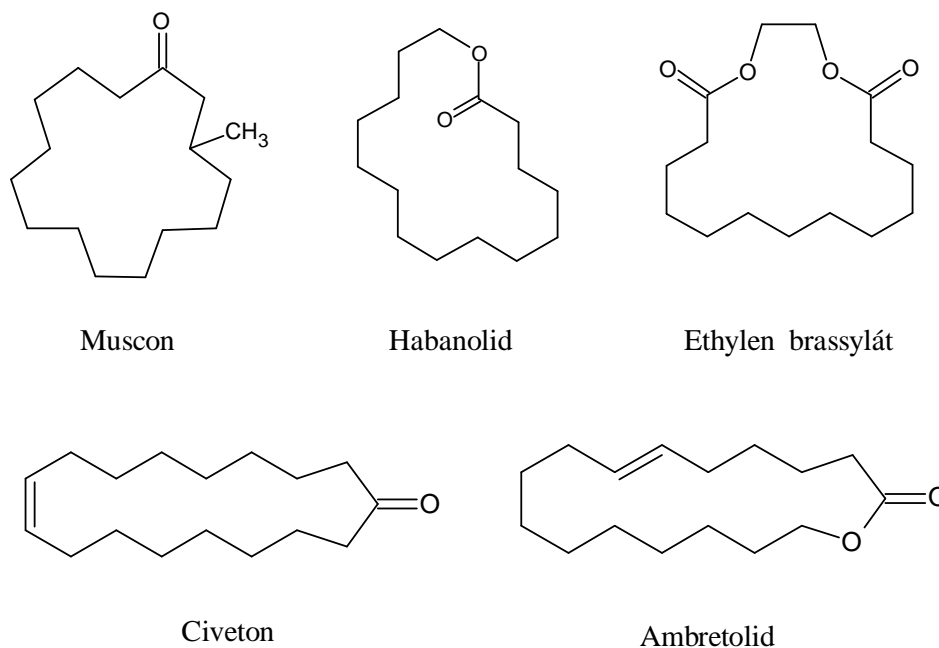
pro pířmo rostlinné. Jedná se o látky s 15 a více atomy uhlíku vzájemn ě propojenými do cyklu. ěm je kruh v t-í, tím má molekula siln ější pířmovou v ěni. Makrocyclická pířma jsou stabilní v ěi sv ětlu a zdají se být snadn ěji odbouratelná v ěivotním prost ědí. [3]

Syntéza makrocyclických pířem je pom ěrn ě obtířná a skládá se z n ěkolika reak ěních krok ě, což zvyšuje jejich cenu. Dlouhá léta tak byly vyuřřívány jen v malém m ěřtku. V druhé polovin ě devadesátých let se na celosv ětové produkci syntetických pířem podílelo jen asi 5 % t ěchto slou ěenin. Dnes se již jejich dostupnost zlepšuje, nebo nové chemické postupy umořřují ekonomicky výhodn ější syntézy, což p ěispívá k poklesu jejich ceny. [3]

Zna ěn ě pozitivní stránkou t ěchto látek je jejich chemická podobnost s p ěrodními pířmi. Nejen, ře jsou ětrn ější k ěivotnímu prost ědí, ale vlastní ěi hodnotn ější vonné charakteristiky. Jejich v ěn ě jsou intenzivn ější než v ěn ěnitrovaných a polycyclických pířem a lze je tedy pouřřívat v niřřích dávkách tak, ře p ěřfém neztrácí svoji ú ěinnost. Krom ě toho mají výborné fixa ění schopnosti, což je velmi cen ěno zejména v p ěřfumá ství. [41]

Hmotnostní spektra makrocyclických pířem se hodn ě podobají p ěrodním mastným kyselinám a jejich derivát ěm a mohou p ěi analýzách vzorku uniknout pozornosti. Po chemické stránce jsou obtířn ěji separovatelné, podobn ě jako p ěrodní pířmové produkty. Prozatím nejsou tyto látky p ěřli ě prozkoumány a o jejich ú ěincích na ěivotní prost ědí není dostatek informací, a koli se jim v ěnuje uřřřada studií. [45]

Významným p ědstavitelem této skupiny je ethylen brasylát, nebo ě má oproti ostatním niřří náklady na výrobu. Ke známým zástupc ěm pak pat ěí již zmí ěovaný muscon a civeton, následn ě habanolid, exaltolid, ambretolid, cyklopentadekanolid a dal-í. [3]



Obr. 12. Strukturální vzorce zástupců makrocyclických piřem

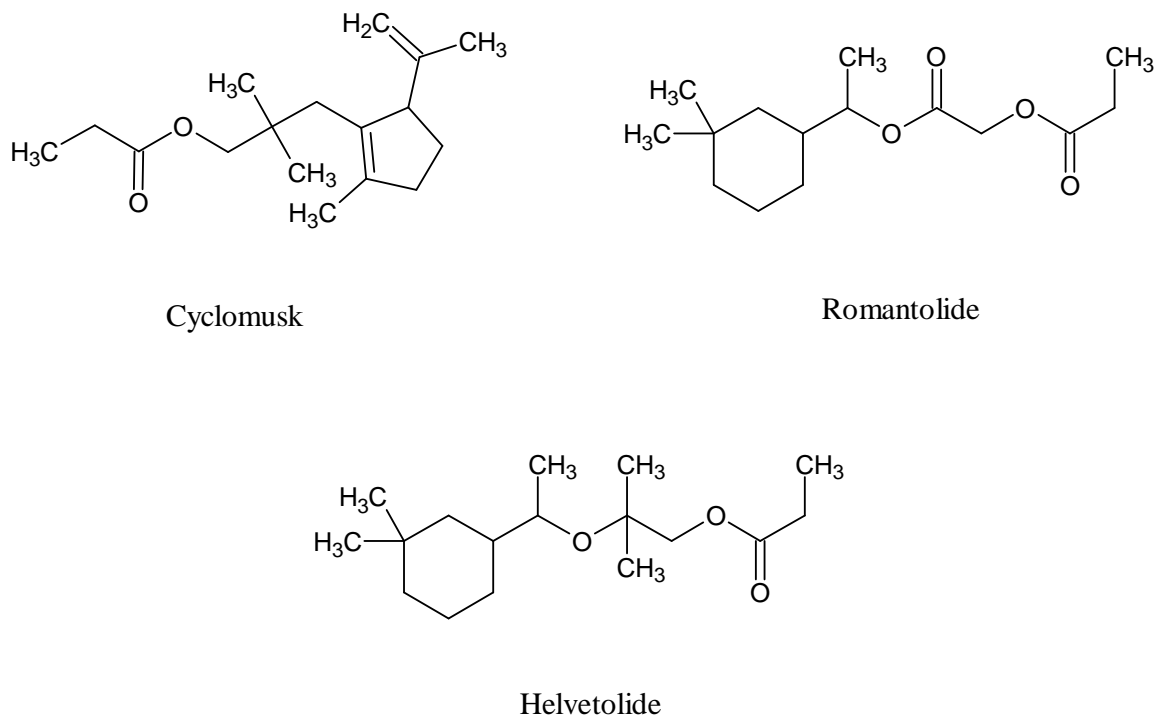
2.5.4 Lineární piřma

Lineární neboli alicyklická piřma jsou relativně novou třídou na poli syntetických musků sloučenin. Strukturálně se jedná o cykloalkylestery, které se od ostatních piřem liší zejména svojí biologickou aktivitou a sensorickými vlastnostmi. První lineární piřmo bylo objeveno v roce 1975 chemikem Hoffmanem a von Fraunbergem a neslo název cyklomusk (Obr.13.). O několik let později byly syntetizovány další dva zástupci, a to helvetolide a romandolide (Obr.13.). Cyklomusk, substituovaný cyklopentan s esterovou funkční skupinou, a helvetolid vlastní ovocné vůni. Cyklomusk je cítit jahodovým aroma a helvetolid připomíná vanilku. Romantolid ovšem voní podobně jako nitrovaný musk ambrette. [46]

Syntéza lineárních piřem měla své úskalí, neboť bylo třeba dále pokračovat v přípravě nových vonných látek, které by byly alternativou k flivotnímu prostředí nebo vodní nitrovaná a polycyklická piřma. Objevením piřem makrocyclických se tato situace sice zlepšila, ale velkou nevýhodou je jejich vysoká cena. [46]

Lineární piřma vykazují příznivější úinky na flivotní prostředí než první dvě skupiny syntetických piřem. Výsledkem screeningových testů biodegradability zpracované organizací

OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) v roce 2011 bylo, že biologická rozložitelnost lineárních musklolefinů je 60%, zatímco u emulzních formulací je dosud neznámá. Z toho lze usuzovat na jejich dopad na životní prostředí. [47]



Obr. 13. Strukturální vzorce zástupců lineárních piřímek

2.6 Vybrané metody pro analýzu syntetických piřímek

Analytické metody pro stanovení syntetických piřímek zahrnují vřdy extrakce, případně čistící krok a následně vhodnou analytickou koncovku, obvykle plynovou chromatografií ve spojení hmotnostním detektorem.

Pro analýzu syntetických piřímek je v současné době k dispozici celá řada metod. Většina z nich se používá pro analýzu složek vlivotního prostředí jako jsou povrchové vody, odpadní vody, kaly, sedimenty a ovzdušší. V případě analýzy složitých matic, kterými vodní kaly, sedimenty a také biologické vzorky (ryby, tuková tkáň, krev, mateřské mléko, atd.) bezesporu jsou, je třeba prekoncentrací kroku vnovat zvýšenou pozornost, aby vliv

rušících složek byl minimalizován, a bylo tak dosaženo požadovaných detekčních limitů. [48],[49]

K tradičním extrakčním technikám patří extrakce kapalina-kapalina. Tato metoda s vhodnou technikou přečištění a ve spojení s plynovou chromatografií (GC) nebo vysokouinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) poskytuje dobrou citlivost s nízkou mezí detekce (v řádech pg/g). Nicméně je extrakce kapalina-kapalina náročná z hlediska nutnosti použít relativně velké množství vzorku (2-10 ml) a organických rozpouštědel, které bývají 10 krát až 100 krát větší než objem vzorku. Extrakce kapalina-kapalina navíc není ideální pro monitoringové studie, kdy je třeba analyzovat řádově stovky vzorků. [49],[50],[51]

Dnes se pro analýzu syntetických pesticidů a dalších organických polutantů, vyskytujících se v životním prostředí převážně ve stopových koncentracích, běžně používá extrakce tuhou fází. Metoda SPE (Solid-Phase Extraction) a její verze SPME (Solid-Phase Microextraction) patří v této oblasti analýzy mezi široce používané prekoncentrační techniky. SPME je v současnosti vůbec nejlepší dostupná metoda pro extrakci vonných látek, resp. pro úpravu vzorků před vlastní chromatografickou analýzou. Výhodou SPME extrakce je zejména nepoužívání rozpouštědel, tedy šetrnost k životnímu prostředí a nenáročnost provedení. Při HS-SPME (Headspace Solid-Phase Microextraction) není vzorek navíc nikterak poškozen. SPME lze využít jak v laboratorních, tak v terénních podmínkách. [50],[52],[53]

Další moderní metody vhodné pro analýzu syntetických pesticidů jsou z hlediska typu extrakce vztínou modifikací předchozích technik nebo jejich miniaturizovanou formou. Jedná se například o metody LPME (Liquid-Phase Microextraction), LLME (Liquid-Liquid Microextraction), SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction), SDME (Single-Drop Microextraction), USAEME (Ultrasound Assisted Emulsification Microextraction), MASE (Membrane Assisted Solvent Extraction), MEPS (Microextraction by Packed Sorbent) a další, vztínou ve spojení s GC nebo HPLC. Zdaleka nejběžnější analytickou koncovkou je plynová chromatografie, a to buď s detektorem elektronového záchytu (ECD), plamenovou ionizací (FID) nebo hmotnostní spektrometrií (MS). [49],[50],[51],[52]

2.6.1 Extrakce tuhou fází (SPE)

Extrakce tuhou fází je dnes velmi oblíbená technika schopná rychlé a selektivní izolace analytu ze vzorku. Extrakční technika se dá použít k čištění vzorku, prekoncentraci

stopových látek, odsolování, derivatizaci nebo frakcionaci. Dle jednodušší této metody je oproti extrakci kapalina-kapalina nižší spotřeba rozpouštědla. [54]

Princip SPE spoívá v sorpci analytu z roztoku na pevný sorbent, kdy se ustavuje rovnováha analytu mezi kapalinou (matrice vzorku) a pevnou fází (sorbent). Výběr vhodného sorbentu pro SPE je závislý na dobré znalosti charakteru analytu a jeho interakci se sorbentem. Rozhodujícím parametrem je především polarita. Každý sorbent má tedy jedinečnou kombinaci vlastností a může být selektivně použit pro různé typy sloučenin. Nabídka sorbentů je dnes velmi pestrá, což umožňuje uplatnění SPE v řadě aplikací. [55],[54]

Sorbenty jako adsorpční materiály jsou neustále vyvíjeny už řadu let. Sorbenty zachycují organické látky z různých matric v etné vody, vzduchu, pody nebo rostlinných materiálu. Sorbent se silnou afinitou koncentruje analyty i z velmi zředěných vzorků. [56]

Typy sorbentů rozdělujeme nejbližší do tří skupin. Jedná se o anorganické oxidy, sorbenty s nízkou specifitou a specifické sorbenty. Ke známým anorganickým sorbentům patří silikagel, oxid hlinitý, kadmicitan hořelý nebo kadmelina. Do skupiny sorbentů s nízkou specifitou řadíme chemicky modifikované silikáty, porézní polymery a sorbenty na bázi uhlíku. Specifické sorbenty jsou založeny na specifických interakcích mezi analytem a částicemi sorbentu a spadají sem materiály na bázi iontomění, bioafinitní sorbenty a podobně. [57]

SPE pro kapalné vzorky se rozvinula na počátku 80. let. Dnes jsou známé dvě podoby SPE techniky, a to disky a kolonky. SPE disky jsou oblíbené pro svoji flexibilitu a schopnost extrakce malých objemů. Svým designem se podobají filtračním diskům. Pro větší objemy vzorků jsou vhodnější kolonky plněné sorbentem. [54],[57]

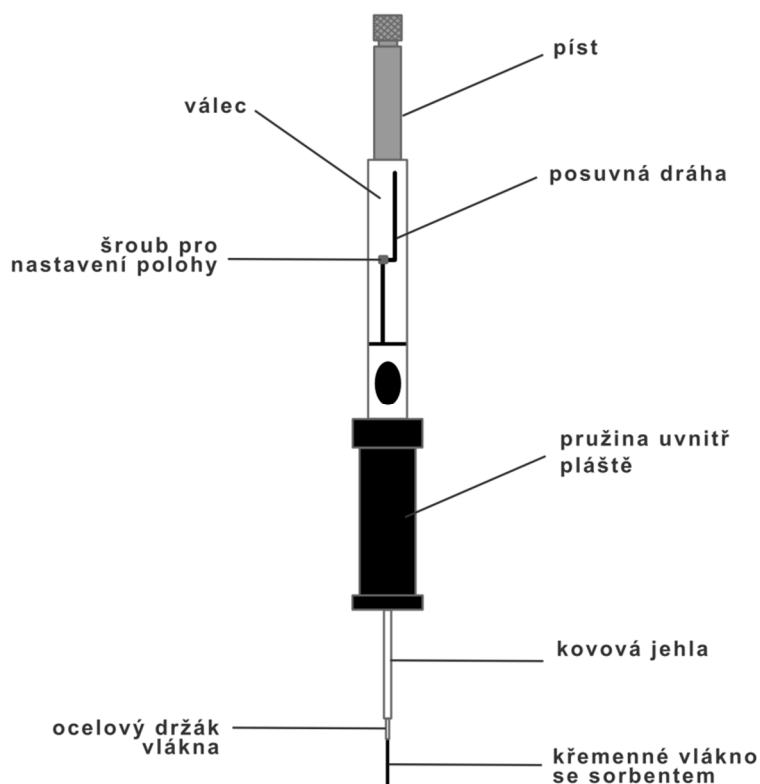
Proces SPE vyžaduje v třednou předúpravu vzorku (například filtraci), dále kondicionaci kolonky, dávkování vzorku, sušení sorbentu a eluci zachycených analytů. Aby extrakce byla účinná, musí mít analyty větší afinitu k sorbentu než k matrici vzorku. [54]

Extrakce tuhými fázemi je jedna z nejvíce užívaných separačních technik pro extrakci organických polutantů ze vzorků vody. Je vhodná pro extrakci pesticidů, léků, vitamínů a celé řady organických sloučenin, včetně syntetických pigmentů. [54],[55]

2.7 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Mikroextrakce tuhou fází, je technika, která slouží k izolaci a zakoncentrování analytů z matrice vzorku (Obr. 14.). Vyuffívá malého objemu stacionární fáze ukotvené na vlákno. Při kontaktu se vzorkem jsou analyty absorbovány nebo adsorbovány na fázi vlákna, dokud není ustanovena rovnováha mezi koncentracemi analytu v obou fázích. Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdílů koeficientu mezi maticí vzorku a materiálem vlákna. Zachycené sloučeniny jsou následně analyzovány vhodnou instrumentální separační technikou (GC, LC). [58]

Koncept SPME vyvinul za átkem 90. let Janusz Pawliszyn na Univerzitě Waterloo v kanadském Ontariu. SPME integruje vzorkování, extrakci a dávkování analytů. Tento způsob extrakce usnadňuje monitoring na místě odběru vzorku a používá se při analýzách fiP, v prmyslovém monitoringu, klinické a forenzní analýze, při analýze chuťových a vonných látek, při analýze drog a podobně. [58]



Obr. 14. Ukázka zařízení SPME designované firmou Supelco (Sigma Aldrich)

2.7.1 Princip SPME

Princip metody je velmi jednoduchý. Analyty ze vzorku se sorbují na křemenné vlákno opatřené tenkou vrstvou stacionární fáze. Vlákno se nachází uvnitř kovové jehly, která slouží k jeho ochraně před mechanickým poškozením a k propíchnutí septa vialky, ve které je umístěn analyzovaný vzorek. Po propíchnutí septa se vlákno z jehly vysune pomocí pístu a ihned začne probíhat extrakce až do doby, kdy je dosaženo rovnováhy. Rovnováha mezi vzorkem a stacionární fází vlákna se zpravidla ustavuje během několika desítek minut. Poté se vlákno zasune zpět do jehly, jehla se z vialky vytáhne a vloží do nástřikového prostoru chromatografu. Vlákno se opět vysune a desorpčním procesem se analyty uvolní do toku mobilní fáze. Při nástřiku do plynového chromatografu se látky zachycené na vlákne desorbují tepelně a jsou unášeny nosným plynem na kolonu. V případě kapalinové chromatografie je vlákno desorbováno vlivem kapalné mobilní fáze. [59],[60]

SPME je snadná, rychlá a citlivá prekoncentrační technika nevyžadující použití rozpouštědel nebo složitě aparatury. Je univerzálně použitelná pro mnoho aplikací a dá se snadno automatizovat. SPME technika se standardně používá ve spojení s plynovou nebo kapalinovou chromatografií. S vývojem separačních technik se do popředí dostává i spojení s kapilární elektroforézou. Metoda vykazuje linearitu v širokém koncentračním rozsahu. Volbou typu vlákna se dosahuje reprodukovatelných výsledků i pro nízké koncentrace. Pro analýzu vzorku je vhodné dodržovat stejné podmínky vzorkování, hodnotu pH, iontovou sílu a podobně. [61],[62]

2.7.2 Optimalizace SPME

Shodnost výsledků a spolehlivost detekce je ovlivněna celou řadou faktorů, které je třeba vlastní analýzou nutně optimalizovat. Jedná se zejména o parametry vlákna, způsob vzorkování, o úpravu pH a iontové síly roztoku, míchání nebo teplotu a dobu sorpce.

2.7.2.1 Způsob vzorkování

SPME vzorkování lze provádět ve třech základních režimech, a to přímou extrakcí, head-space extrakcí a extrakcí s ochrannou membránou. [63]

- ***P ímá extrakce***

P íp ímé extrakci je vlákno vlofeno p ímo do matrice vzorku. Metoda je ur ena zejména pro kapalné vzorky s omezenou t kavostí analytu. Ustanovení rovnováhy m fle být v tomto p ípad znesnadn no interferujícími látkami obsaflenými v matrici. Významnou roli zde také hraje míchání vzorku, které m fle napomoci rychlejší difuzi analyt k vláknu. Za nevýhodu p ímé extrakce pak lze považovat významné zkrácení flivotnosti vlákna v d sledku jeho po–kozování p íp ímém kontaktu se vzorkem. [60],[63]

- ***Head-space***

Tato varianta pouflití SPME vlákna vyuffívá extrakci analyt z prostoru nad kapalným nebo pevným vzorkem v uzav ené nádob . Rozdíl oproti p ímé extrakci je v rychlosti ustavení rovnováhy. Molekuly analytu se v plynné fázi pohybují rychleji nefl v kapalin , a rovnováhy je tedy dosafleno v krat–ím ase. Velký význam zde hraje teplota, nebo p í zah ívání roste tenze par analyt v nádob a tím se zvyš–uje i jejich koncentrace v head-space prostoru. Technika je vhodná pro látky s dostate nou t kavostí. [60],[63]

- ***Extrakce SPME s ochrannou membránou***

V tomto režimu vzorkování je vlákno od vzorku odd leno polopropustnou membránou, která je selektivní pro ur ité analyty, zatímco blokuje pr chod interferujících látek. Hlavním cílem membrány je chránit vlákno od vysokomolekulárních látek a ne istot ze vzorku. Tento zp sob umofl uje analýzu mén t kavých slou enin. Proces extrakce je ov–em podstatn pomalejší nefl u p ímé extrakce. Pro zkrácení extrakce je vhodné zvý–ení teploty a pouflití tenkých membrán. [60],[63]

2.7.2.2 Typ stacionární fáze

Pro výb r vhodného typu vlákna, resp. typu stacionární fáze je velmi d leflitá chemická povaha analytu. Základním parametrem je polarita a molární hmotnost analytu, dále pak jeho p íbliflná koncentrace ve vzorku a sloflitost matrice. [60]

Nejd leflit j–ím parametrem je polarita. Pro extrakci nepolárních látek jsou vhodná vlákna s nepolární stacionární fází a naopak. Dal–ím faktorem pro optimalizaci extrakce je tlou– ka stacionární fáze. Tlou– ka sorbentu významn ovliv uje citlivost metody. Siln j–í

vrstva je schopna vyextrahovat v t-í množství analytu než vrstva tenká. Siln-í vlákno se používá pro zachycení t-ích látek, vyžaduje ov-ém mnohem del-í dobu pro ustanovení rovnováhy než u vlákna s tenkou vrstvou. Analyt také m-oh být p-ená-en do dal-í extrakce, což je nežádoucí. Tenká vrstva sorbentu zají-uje naopak zrychlenou difúzi a hodí se pro extrakci vý-e vroucích látek. Tlou-ka fáze se pohybuje do 100 μm a v objemu do 1 μl . [60],[63]

Stacionární fáze je bu- vysoce viskózní kapalina, nebo pevná fáze. Vzhledem k typu materiálu je odli-ný i sorp- ní mechanismus. Absorp- ní proces je typický pro kapaln-é fáze, u pevných zase dochází ke složit- ímu mechanismu, k adsorpci. [63]

Ke kapaln-ým materiál- m pat- í nap- . PDMS (polydimethylsiloxan). PDMS byl v- bec první extrak- ní fáze používanou pro SPME. Dodnes se používá zejména v kombinaci s dal-ími druhy materiál- . Pevné materiály reprezentuje nap- . Carboxen. V tomto p- ípad- jde o materiál na bázi aktivního uhlí. Existují i kompozitní materiály ozna-ované jako pevné sorbenty s porézním povrchem. Sem pat- í kombinace jako PDMS-DVB, CAR-DVB a podobn- . N- které druhy vyráb- ných SPME vláken jsou uvedeny v tabulce (Tab.III.). [63],[64]

Tab. V.: Přehled SPME vláken dodávaných firmou Sigma Aldrich [62]

Stacionární fáze SPME	Zkratka názvu stacionární fáze	Tloušťka stacionární fáze	Typ analytu pro extrakci
Polydimethylsiloxan	PDMS	100 μm	T kávé sloučeniny Mr = 60-275
Polydimethylsiloxan	PDMS	30 μm	Nepolární, středně t kávé sloučeniny Mr = 80-500
Polydimethylsiloxan	PDMS	7 μm	Nepolární sloučeniny Mr = 125-600
Polydimethylsiloxan/ Divinylbenzen	PDMS/DVB	65 μm	T kávé, amino a nitro sloučeniny Mr = 50-300
Polydimethylsiloxan/ Divinylbenzen	PDMS/DVB	60 μm	Aminy a polární sloučeniny, pouze pro HPLC
Polyakrylát	PA	85 μm	Polární, středně t kávé sloučeniny Mr = 80-300
Carboxen/ Polydimethylsiloxan	CAR/PDMS	75/85 μm	Plyny a nízkomolekulární látky Mr = 30-225
Carbowax	CW	60 μm	Alkoholy a polární sloučeniny Mr = 40-275
Carbowax/ Pryskyřice	CW/TPR	50 μm	Povrchově aktivní látky, pouze pro HPLC
Divinylbenzen/ Carboxen/ Polydimethylsiloxan	DVB/CAR/ PDMS	50/30 μm Stableflex	T kávé a středně t kávé látky, C ₃ -C ₂₀ Mr = 40-275
Divinylbenzen/ Carboxen/ Polydimethylsiloxan	DVB/CAR/ PDMS	50/30 μm 2 cm Stableflex	Stopové koncentrace t kávé sloučenin Mr = 40-275

2.7.2.3 Vysolování a úprava pH

Účinnost extrakce lze také zvýšit úpravou pH nebo přidáním soli do roztoku vzorku. K vysolování se obvykle používá chlorid sodný nebo síran sodný. Přídavek soli zvýší iontovou sílu roztoku a tím se sníží rozpustnost analytu. Změna pH rovněž ovlivňuje rozpustnost některých analytů. Kyselé látky jsou mnohem lépe extrahovány z kyselého prostředí a naopak. Vhodnou kombinací změny iontové síly a hodnoty pH se zlepšuje extrakce zejména pro polární a t kávé látky při vzorkování head-space. [62],[65]

2.7.2.4 Teplota a doba sorpce

Doba sorpce se v t-ínou volí tak, aby bylo dosaženo co možná nejv t-í extrakce analytu. Obecn ě platí, śe s rostoucím ěsem se mnośství sorbovaných slou ěnin zvy-uje, a to aś do dosaśení rovnováhy. Optimální ekstrak ní ěs lze zjistit prom ěním závislosti výt ěnosti analytu na dobu sorpce. Ustanovení rovnováhy ov-ěm m ě trvat velmi dlouho, aś n kolik hodin, proto lze zvolit krat-í dobu, kterou je pro dobrou opakovatelnost nutné dodrśovat p i v-ech analýzách. [65]

Teplota sorpce také výrazn ě ovliv uje ěs extrakce. U n kterých vzork ě je zah ívání dokonce nutné, zvlá-t u head-space vzorkování slośitých matic a analýze měn ět kavých slou ěnin. Vhodnou teplotu pro analýzu lze op t získat ze závislosti plochy píku analytu na teplot ě. [60]

2.7.2.5 Míchání

Doba pro dosaśení rovnovážného stavu mezi vláknem a vzorkem je z velké ěsti závislá na míchání vzorku. Míchání p íspívá k rychlejšímu dosaśení rovnováhy a zkracuje tak dobu extrakce zejména u molekul s vy-í molekulovou hmotností. Pro míchání se v t-ínou pouśívá magnetické míchadlo nebo ultrazvuk. Krom ě toho se dá pouśít i vortexové míchání, pohybování vláknem p i p íměm vzorkování nebo pr tokové míchání. Pouśití magnetického míchadla zaru uje dobrou ú ěinnost, nevýhodou je v-ak udrśení konstantních otá ěek po celou dobu analýzy. Konkurencí m ě být ultrazvukové míchání, p i kterěm se navíc vzorek zah ívá a dochází k výrazn ějšímu uvol ěování analyt ě do plynné fáze. [62],[65]

2.7.2.6 Objem vzorku

Objem vzorku by m ěl být vybrán na základ ě odhadovaněho rozd ělovacího koeficientu vlákno/vzorek. Hodnoty koeficientu jsou pro mnohé analyty tabelovány, ale dají se zjistit i výpo ětem nebo experimentáln ě. P i analýze je také nezbytně zohlednit ztráty analytu adsorpcí (nap ě. na st ěny vialky), odpa ěváním, mikrobiálním rozkladem apod. Objem vzorku m ě být velmi velký, je-li p ímým vzorkováním analyzováno nap íklad ovzdu-í nebo vzorky vody. Pro vzorkování head-space se doporu ují men-í objemy, obvykle 1-5 ml vzorku. [63]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ÁST

3.1 Chemikálie

- galaxolide (70 %, 30% traseolide) (Kunshan Yalong Trading, Kunshan, ína)
- tonalide (Kunshan Yalong Trading, Kunshan, ína)
- musk xylene (Kunshan Yalong Trading, Kunshan, ína)
- musk ketone (98 %) (Kunshan Yalong Trading, Kunshan, ína)
- musk ambrette (Kunshan Yalong Trading, Kunshan, ína)
- methanol, p.a. (Lach-Ner, Neratovice, R)
- aceton, p.a. (Lach-Ner, Neratovice, R)
- dichlormethan, p.a. (Lach-Ner, Neratovice, R)
- dusík (Messer Group GmbH, Sulzbach, N mecko)
- destilovaná voda

- **P íprava standardních roztok**

Z uvedených chemikálií byly rozpu-t ním v acetonu p ípraveny standardní roztoky syntetických pířem o koncentraci 1 mg/ml a 100 µg/ml. Ze standardních roztok byl p ípraven sm sný standard pro optimalizaci SPME postupu o koncentraci cílových látek 100 µg/l ve vod .

3.2 P ístroje a pom ůcky

GC/MS

- plynový chromatograf Agilent 7890A (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)
- hmotnostní spektrometr Agilent MS 5975C (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)
- automatický dávkova ě Agilent G 4513A (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)
- nepolární kapilární kolona HP-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)
- nosný plyn - He 5.0 (SIAD, Bergamo, Itálie)
- program MSD ChemStation E, (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)
- databáze hmotnostních spekter NIST 08 (NIST/EPA/NIH)

SPME a SPE za ízení

- SPME vlákno 50/30 µm Divinylbenzen/Carboxen/Polydimethylsiloxan (DVB/CAR/PDMS), délka vlákna 2 cm (StableFlex) (Supelco, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- SPME vlákno 85 µm Carboxen/Polydimethylsiloxan (CAR/PDMS), délka vlákna 1 cm (StableFlex) (Supelco, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- drŕlák SPME vlákna pro manuální dávkování (Supelco, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- SPE kolonky Oasis HLB 3 cc s polymerním sorbentem (60 mg) (Waters, Milford, USA)
- SPE vakuový manifold (Supelco, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)

Dal-í

- analytické váhy NewClassic MS205 (Mettler Toledo, Greifensee, TMŮcarsko)
- magnetická mícha ka
- laboratorní stojan
- automatické pipety a plastové -pi ky
- sklen ěné vialky pro head-space (40 ml)
- krimpovací vialky o objemu 1,8 ml
- b ěné laboratorní sklo

3.3 Analýza syntetických piřem

3.3.1 Analýza standard

Pro ověření identity standard syntetických piřem a pro získání hmotnostních spekter sledovaných látek byla provedena analýza standardních roztoků o koncentraci 100 µg/ml (v acetonu) pomocí nástřikem do plynového chromatografu. Pro detekci byl použit standardní laděný hmotnostní spektrometr s elektronovou ionizací (70 eV) a snímáním spekter v rozsahu 29 - 520 m/z.

3.3.2 SPME analýza

Pro screeningové (převážně kvalitativní) analýzy vzorků různých skupenství byla navržena head-space (HS) varianta SPME extrakce. Navážka vzorku byla umístěna ve 40 ml skleněné HS vialky a vzorkována extrakčním vláknem DVB/CAR/PDMS nebo CAR/PDMS, obvykle po dobu 30 minut při laboratorní teplotě. Pro screeningové analýzy bylo vybráno celkem 70 produktů (parfémy, toaletní vody, kosmetika, čisticí prostředky, osvěžovače vzduchu, atd.), které byly pořízeny v místní maloobchodní síti. Výjimkou byl vzorek parfému Varna, Essence de Rose z roku 1960, zařazený do studie jako srovnávací vzorek z období před zipsáním legislativní úpravy pro používání syntetických piřem v EU. Sprejové výrobky byly dávkovány v rozsahu 0,12 - 0,84 g, ostatní v rozsahu 0,31 - 2,41 g. Pro dosažení rovnováhy byly vzorky před SPME analýzou ponechány 10 minut stát při laboratorní teplotě.

Po skončení expozice byla provedena GC/MS analýza. Desorpce probíhala v nástřikovém prostoru plynového chromatografu při teplotě 280°C po dobu 5 minut. Pro separaci byl použit teplotní program: 50°C - 2 min. - 5°C/min - 250°C - 5 min (celková doba analýzy 47 min.).

Pro minimalizaci rizika kontaminace vzorku analyty z předchozí analýzy bylo veškeré používané laboratorní sklo čištění v laboratorní myčce intenzivním mycím programem (90°C) a nakonec sušeno v horkovzdušné sušárně při teplotě 150 °C po dobu 60 min.

Pro kvantifikaci byly využity selektivní ionty uvedené v tabulce (Tab.VI). Pro odhad koncentrace jednotlivých piřem bylo využito kalibračních závislostí v rozsahu 0 až 20 µg/g. Standardní roztoky byly připraveny v modelové matici tvořené směsí glycerol : voda (1:1,

v/v). Pro přípravu byly použity standardní roztoky pířem v acetonu a všechny kalibrační roztoky byly připraveny tak, aby byl obsah acetonu ve všech standardech stejný (2 %).

Tab.VI: Vybrané selektivní ionty pro kvantifikaci

	Galaxolid	Tonalid	Traseolid	MX	MK	MA
m/z	243	243	215	282	279	253

3.3.3 Analýza pracovního prostředí

Jako příklad analýzy špracovního prostředí zatřfeného syntetickými pířmi byl zvolen modelový případ analýzy ovzduší po aplikaci kosmetického přípravku (laku na vlasy) a reálná analýza ovzduší v parfumerii.

V prvním případě byl aplikován lak na vlasy (Wellaflex) s obsahem syntetických pířem (galaxolid a tonalid) na papírový kapesník v uzavřené místnosti. Poté ve vzdálenosti asi 50 cm od kapesníku bylo umístěno SPME vlákno DVB/PDCAR/PDMS po dobu 60 min, viz Příloha 2 (Obr. 28). Chromatografická separace byla provedena za stejných podmínek jako u screeningových analýz, v případě hmotnostní detekce pak bylo využito metody sledování selektivních iontů (SIM mód). Pro galaxolid i tonalid byly vybrány selektivní ionty 243 m/z.

Ve druhém případě bylo extrakční vlákno umístěno během pracovního dne v prostorách parfumerie, v nichž se obsluha běžně pohybuje. Doba sorpce byla rovněž 60 min. Po uplynutí této doby bylo vlákno uloženo do vialky naplněné dusíkem a přeneseno do laboratoře k okamžité analýze. GC/MS analýza byla provedena za stejných podmínek jako u screeningu. Hmotností detekcí byly sledovány ionty v celkovém iontovém proudu (TIC mód).

3.3.4 Analýza odpadní vody

Pro (kvantitativní) analýzu vzorků odpadních vod byla navržena metoda extrakce tuhou fází (SPE) a polymerním sorbentem (Oasis HLB). SPE kolonky byly kondicionovány 3 ml acetonu a následně 3 ml destilované vody. Na takto připravené kolonky byly postupně naneseny vzorky s průtokem o rychlosti asi 8 ml·min⁻¹. Poté byly kolonky krátce vysušeny prosáváním vzduchu (asi 1 min.). Následně byly zachycené analyty z kolonek eluovány směsí

3 ml methanolu a 3 ml dichlormethanu. Získané extrakty byly pod mírným proudem dusíku zakoncentrovány na výsledný objem 0,5 ml. Stejným způsobem byla provedena analýza slepého pokusu (destilovaná voda).

Pro zjištění propustnosti poufletých SPE kolonek byla provedena extrakce vodných roztoků pročištěnými kolonkami dichlormethanem (5 ml). Po skonění extrakce byla dichlormethanová fáze odebrána a takéť pod mírným proudem dusíku zakoncentrována na objem 0,5 ml. Stejný postup byl aplikován i v případě analýzy slepého vzorku.

Konečné extrakty byly analyzovány pomocí nástřikem do plynového chromatografu za poufletí teplotního programu: 50°C ó 2 min. - 10°C/min - 300°C ó 15 min (celková doba analýzy 42 min). Hmotnostní spektra byla snímána v TIC i SIM módu.

Jako vzorek byla poufletá odpadní voda po umytí rukou tuhým mýdlem (Lidl, Lemon) a vzorek čerpané vody (2 ml vzorku čerpanu Vittore de Conti v 500 ml vody). Vzorky byly zfiltrovány přes papírový filtr a alikvotní podíl (100ml) byl aplikován na kolonku. Kalibrační závislosti byly získány analýzou standardních roztoků připravených v koncentračním rozmezí 8 - 256 µg/ml edním zásobních roztoků acetonem.

3.3.5 Analýza čírné vody

Vzorky čírné vody byly odebrány ze třech vodních toků v Olomouci, a to z řeky Moravy a ze dvou jejích přítoků, Mlýnského potoka a Bystřice (Obr.15.). Pro odběr vzorků byly pouflety plastové vzorkovnice v objemu 500 ml. Po odběru byly vzorky ihned zpracovány v laboratoři.

Vzorky čírné vody byly zfiltrovány přes papírový filtr, přičemž první podíl filtrátu (asi 50 ml) byl vylit. Konečný objem filtrátu pro SPE extrakci činil 250 ml. Podmínky SPE extrakce byly shodné jako u analýzy vzorků odpadní vody. Pro potvrzení identifikace a kvantifikaci cílových látek byla vyuffletá metoda standardního přidavku.



Obr.15.: Místa odběru vody v Olomouci, zdroj: www.mapy.cz

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Analýza syntetických pílím

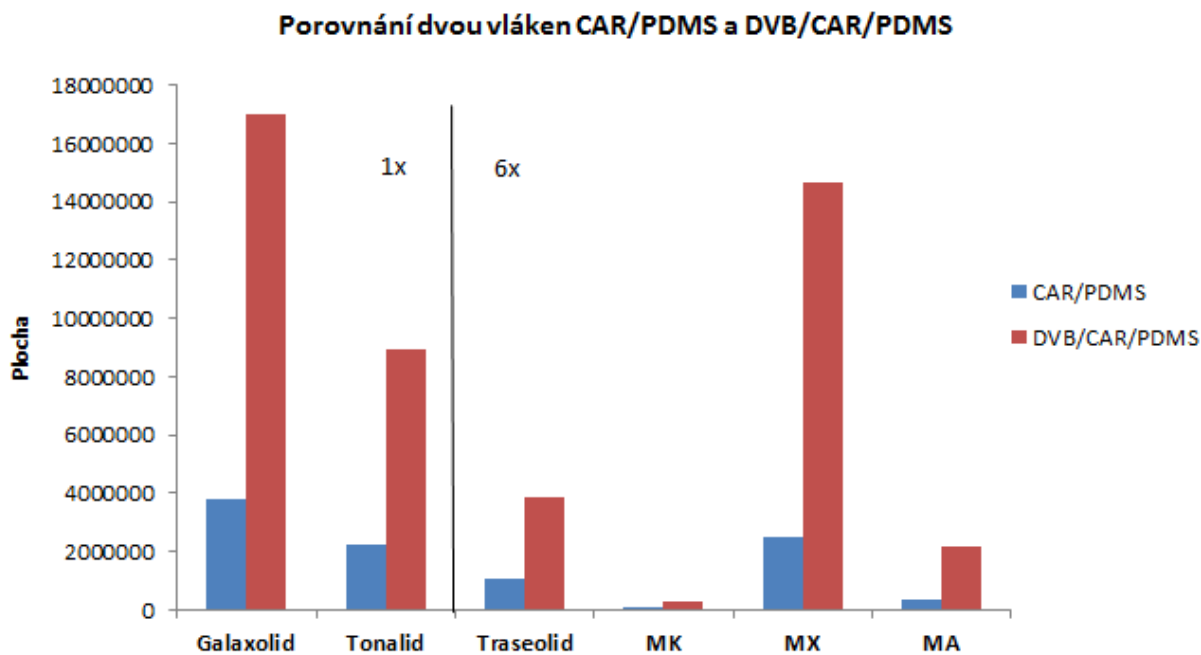
Pro ověření možnosti separace a detekce jednotlivých látek a ověření identity standard byly provedeny analýzy sledovaných pílím pomocí nástrojem standardních roztoků o koncentraci 100 µg/ml v acetonu. Analýzou byla potvrzena deklarovaná identity látek. V případě galaxolidu byla deklarována identity 70 %. Jako neidentita byl analýzou identifikován traseolid. Pro účely kvantitativního hodnocení byl přijat deklarovaný obsah galaxolidu 70 % a traseolidu 30 %. Hmotnostní spektra standardů jsou uvedena v Příloze 1. Na základě hmotnostních spekter byly pro každý analyt vybrány selektivní ionty pro identifikaci i kvantifikaci (SIM mód, viz Tab.IV.).

4.1.1 Výběr vlákna SPME

Dle dostupné literatury byla pro SPME analýzu syntetických pílím testována sada extrakčních vláken. Při použití extrakčních vláken obsahujících pouze jeden typ extrakční fáze (PDMS, polyakrylát apod.) bylo obvykle dosahováno výrazně nižších extrakčních výtěků ve srovnání s vlákny obsahujícími více stacionárních fází. [66],[67],[68] Do výběru byla proto zahrnuta kompozitní vlákna CAR/PDMS a DVB/CAR/PDMS.

Při analýze vodného roztoku sledovaných pílím byly získány významné výsledky při použití vlákna DVB/CAR/PDMS (Obr. 16). Pro lepší zobrazení byly plochy ty syntetických pílím (Traseolid, MK, MX, MA) vynásobeny faktorem 6.

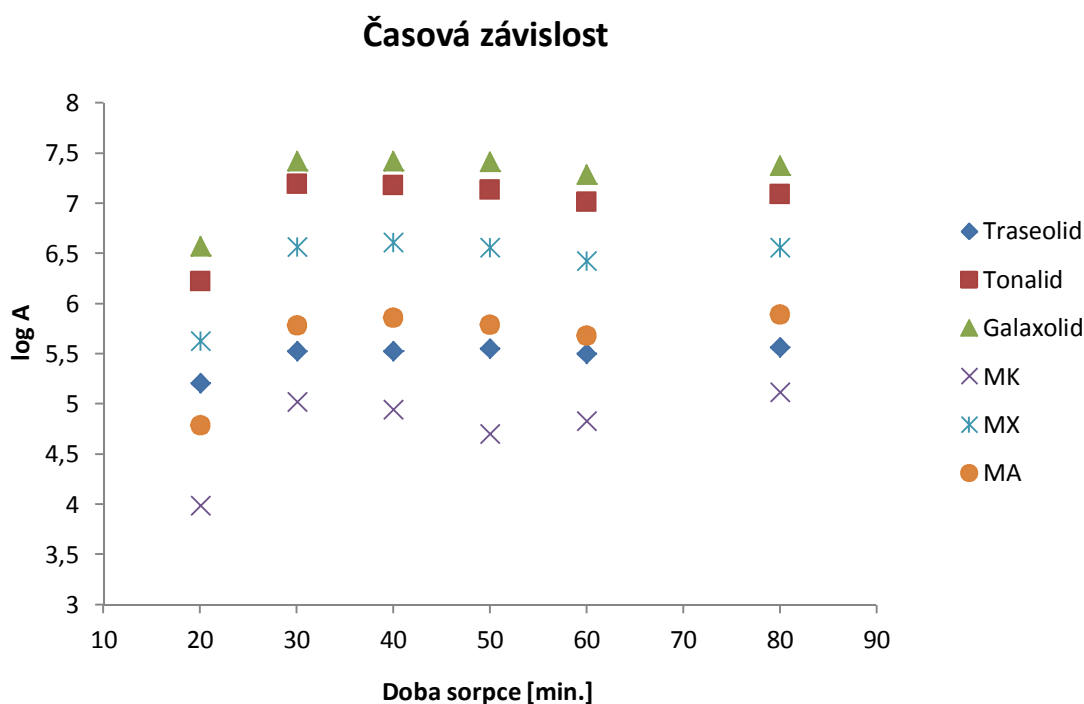
Přinou v tomto výsledku daného vlákna může být jednak výhodná kombinace různých extrakčních fází, jednak větší kapacita vlákna daná větší délkou aktivní části vlákna (2 cm oproti běžně užívaným vláknům délky 1 cm). Pro další experimenty bylo proto vyvoláno vlákno DVB/CAR/PDMS.



Obr. 16: Porovnání dvou typ vláken pro extrakci syntetických píků

4.1.2 Doba sorpce

Pro vybrané vlákno DVB/CAR/PDMS byla prohmána závislost plochy píku na dobu sorpce. Analýza byla provedena při extrakcích časích 20; 30; 40; 50; 60 a 80 minut. Na Obr. 17 je graficky znázorněna získaná časová závislost. Na ose y je vynesena logaritmus plochy píku. Pro SPME analýzu byl na základě změřené závislosti množství extrahovaného analytu na dobu sorpce vybrán čas 30 minut, který byl vhodný pro výtahu analytu. Další prodloužení doby sorpce již nevedlo k výraznému nárůstu plochy píku.



Obr. 17: Závislost plochy píku na době sorpce vlákna DVB/CAR/PDMS

4.1.3 Screeningová analýza

Pro screening komerčních výrobků bylo vybráno celkem 70 přípravků. Byli sledováni i zástupci nitrovaných pířím a i zástupci polycyklických pířím. Jednotlivé výrobky, běžně dostupné na trhu byly vybrány tak, aby pokrývaly různé značky v různých cenových kategoriích. Pro screeningovou analýzu byly výrobky podle jejich použitelnosti rozděleny do 13 skupin na parfémů a toaletní vody, deodoranty ve spreji, prostředky na nádobí, osvěžovače vzduchu, –ampony, sprchové gely, tuhá a tekutá mýdla, krémy a toaletní mléka, čistící a prací prostředky, tablety do myčky a další.

Z celkového počtu 70 komerčních přípravků jich 39 obsahovalo alespoň jedno syntetické pířím. Nejčastěji bylo obsaženo polycyklické pířím galaxolid a tonalid. Galaxolid byl přítomen v 38 vzorcích, a to zejména v parfémech a toaletních vodách. Méně často byl detekován tonalid, který byl přítomen v 9 vzorcích. Další polycyklické pířím traseolid nebylo detekováno. Tyto výsledky potvrzují, že polycyklická pířím jsou stále velmi používána v průmyslu a pokrývají celou řadu komerčních přípravků obsahující vonné ingredience.

Syntetická píflma nitrovaná byla nalezena celkem ve 3 vzorcích. V pohlcova i cigaretového kou e bylo detekováno xylenové píflmo a v bulharském parfému z roku 1960 (Varna) a v tekutém mýdle (Helios) bylo detekováno ketonové píflmo. Ambretové píflmo nebylo detekováno v žádném p ípravku.

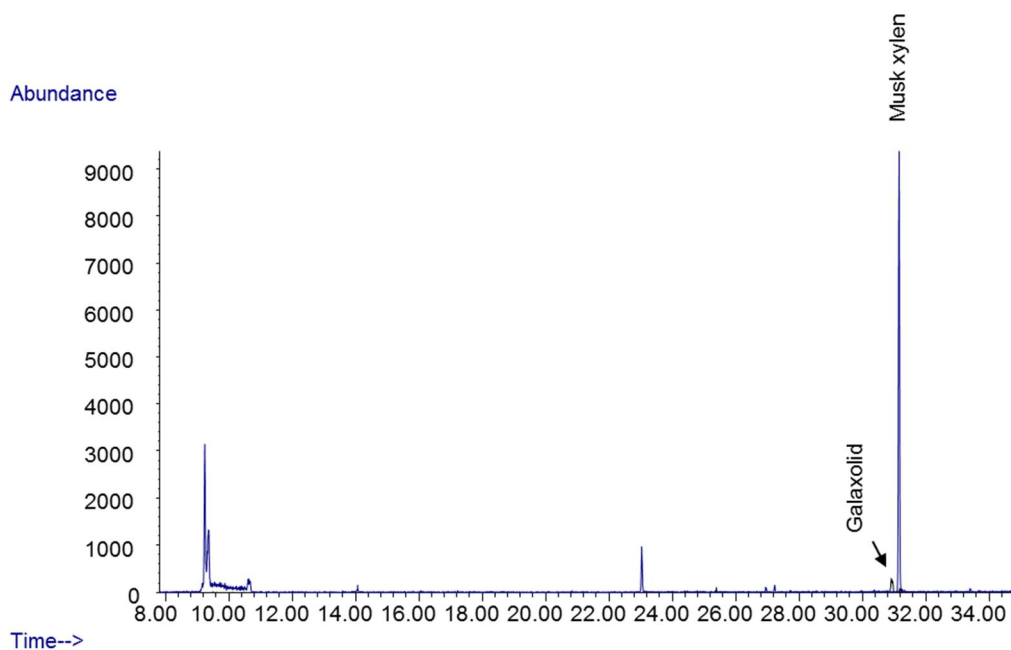
Nitrovaná píflma s ohledem na jejich negativní ú inky na lidské zdraví jsou ufl v mnoha státech zcela zakázána nebo je jejich produkce velmi omezena. Z výsledk análýz lze v–ak konstatovat, fl jsou stále je–t p ítomny v n kterých produktech.

Odhad koncentrace syntetických píflm byl proveden na základ sestrojení kalibra ní závislosti pro jednotlivé látky. Kalibra ní závislost pro galaxolid je graficky znázorn na na Obr. 18. Odhady koncentrací sledovaných píflm jsou uvedeny v tabulce (Tab.VII).

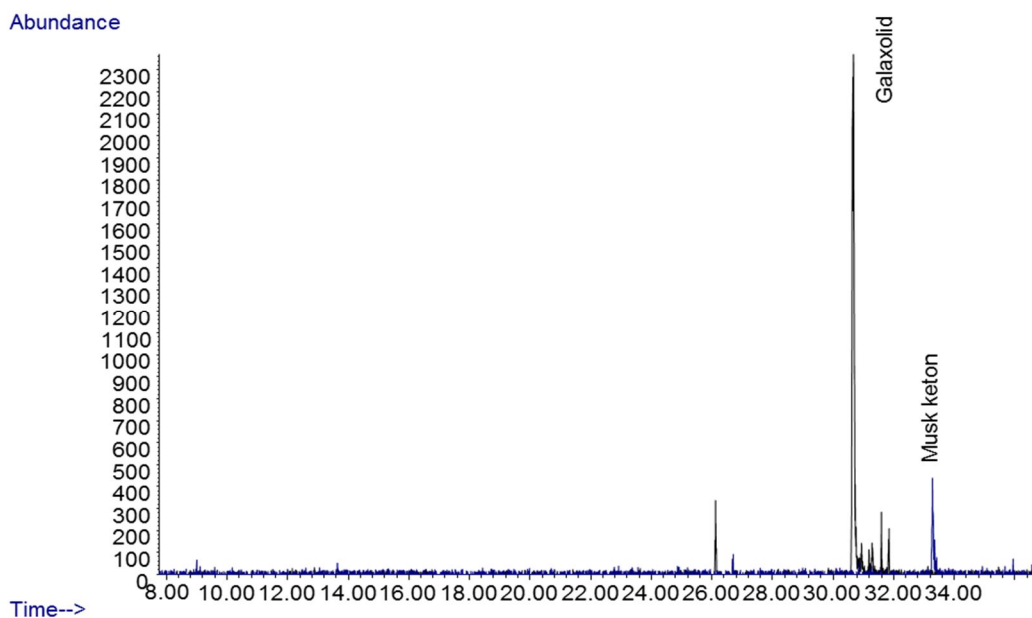
Pro ukázk byly vybrány chromatogramy screeningových análýz t í výrobk , u kterých byla nalezena alespo dv syntetická píflma (Obr. 19-22).



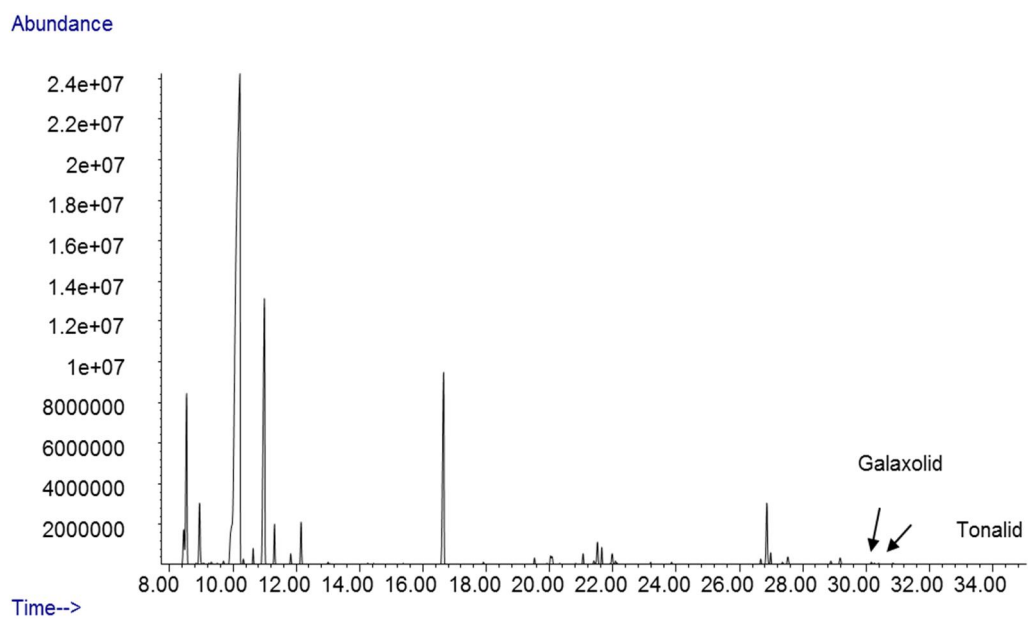
Obr. 18: Kalibra ní závislost koncentrace galaxolidu na plo–e píku



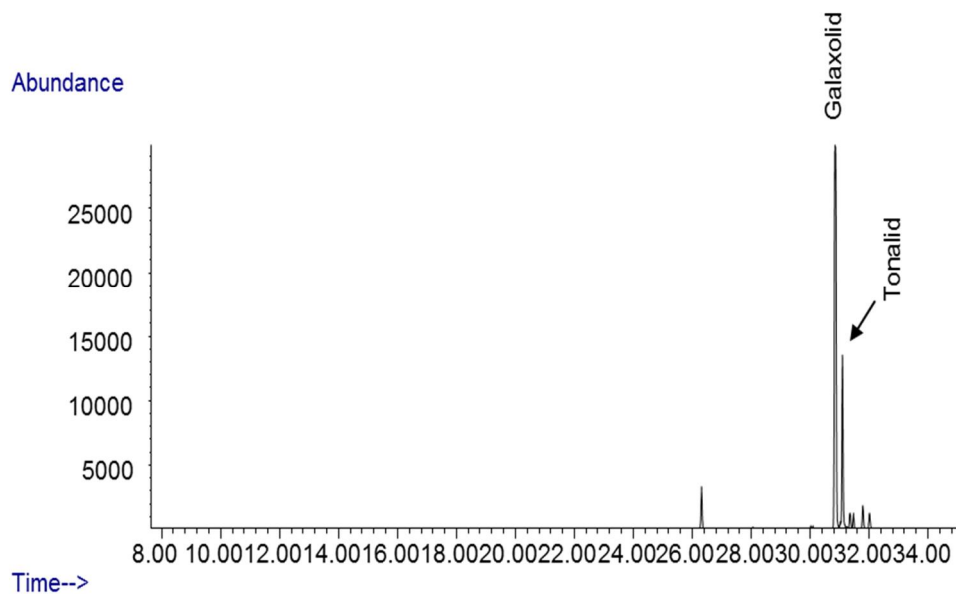
Obr. 19: Iontový chromatogram pro iont 243 a 282 m/z; analýza pohlcova e cigaretového kou e (Brisa Marina)



Obr. 20: Iontový chromatogram pro iont 243 a 279 m/z; analýza tekutého mýdla (Helios Herb)



Obr. 21: Celkový iontový chromatogram (TIC); analýza parfému (Dior, Fahrenheit)



Obr. 22.: Iontový chromatogram pro iont 243 m/z; analýza parfému (Dior, Fahrenheit)

Tab.VII: Výsledky screeningové analýzy komerčních přípravků

	Naválka	HHCB	AHTN	MX	MK
	[g]	[ug/g]	[ug/g]	[ug/g]	[ug/g]
Parfémy a toaletní vody					
Avon, Pur Blanca	0,2819	0,3	-	-	-
Burberry, Body Tender	0,4006	-	-	-	-
Calvin Klein, Eternity	0,3289	13,0	-	-	-
Calvin Klein, CK One	0,4605	24,6	18,0	-	-
Giorgio Armani, Acqua Di Gioia	0,1925	20,8	-	-	-
Chanel, No. 5	0,2500	-	-	-	-
Chloé, Chloé Intense	0,3021	9,7	-	-	-
Christian Dior, Fahrenheit	0,2073	17,3	14,5	-	-
Christian Dior, Miss Dior	0,3568	-	-	-	-
Christian Dior, Poison	0,3568	7,3	-	-	-
Oriflame, Giordani Gold	0,2020	-	-	-	-
Pacco Rabane 1 Million Intense	0,3713	10,8	18,6	-	-
Tonino Lamborghini, Sportivo	0,3512	12,4	-	-	-
Versace, Eros	0,2647	39,8	-	-	-
Varna, Essence de Rose	0,1373	0,4	1,7	-	48,2
Deodoranty ve spreji					
Adidas, Fair Play	0,1239	0,8	1,4	-	-
Coty, Vanilla Musk	0,8028	0,3	-	-	-
Isana, Sport	0,1938	-	-	-	-
Myrosal	0,8431	0,9	-	-	-
Schwarzkopf, Dane	0,5508	0,2	-	-	-
Prostředky na nádobí					
Domol, bez parfému	0,9488	-	-	-	-
šIm best for you, Lemon	0,7405	0,2	-	-	-
Jar, Lemon	1,2787	-	-	-	-
Jar, Sensitive	0,6287	-	-	-	-
Pur, Orange and Eucalyptus	1,0686	-	-	-	-
Osvětlovací vzduchu					
AION - v nádobě do auta („stromek“)	0,9785	5,7	-	-	-
Ambi Pur, Spring and Flowers - sprej	0,4395	-	-	-	-

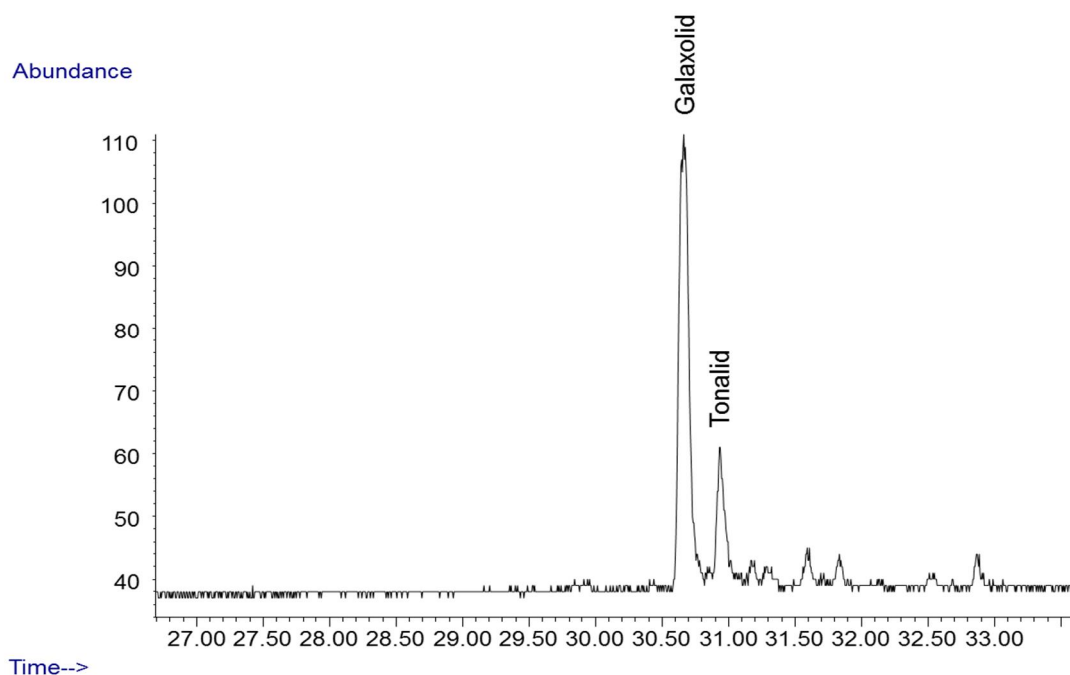
Brisa Marina - pohlcova cigaret. kou e	0,3127	0,3	-	11,3	-
Brise, Ocean - gelový osv flova	2,8612	0,2	-	-	-
Bref, Blue Ocean - prouflek do WC	1,2843	-	-	-	-
Green Tea - v n do auta („strome ek")	1,2450	0,2	-	-	-
Cherry vonná ty inka	1,5031	0,3	-	-	-
Vonná parafinová sví ka	1,2857	-	-	-	-
Šampony na vlasy					
Botanico, R fle	1,8651	0,3	-	-	-
Dove, Hair Therapy	1,0174	-	-	-	-
KISS, B íza	1,7370	-	-	-	-
Loreal, Elseve	1,1082	0,5	-	-	-
Yves Rocher	1,0134	0,3	-	-	-
Vittore de Conti, hotelový šampon	1,3009	0,7	0,6	-	-
Sprchové gely					
Adidas, Game	1,2214	4,7	0,7	-	-
Axe, Africa	1,1214	-	-	-	-
Palmolive, Aaurituel Energy	1,0359	0,4	-	-	-
Yves Rocher, Biomalina	1,0052	-	-	-	-
Vittore de Conti - hotelový sprchový gel	0,9123	0,9	0,7	-	-
Mýdla tuhá					
Arko, broskev	0,8515	-	-	-	-
FA, Luxurious Moment	0,7324	-	-	-	-
Lidl, Lemon	1,0232	0,7	-	-	-
Palmolive, Coolmint and Eucalyptus	0,9119	-	-	-	-
Vittore de Conti - hotelové mýdlo	0,9123	0,3	-	-	-
Mýdla tekutá					
Aile, Sensitive	1,7663	-	-	-	-
Helios Herb, Oliva	1,4251	0,4	-	-	7,8
KISS, Limetka a mandarinka	1,1202	0,4	-	-	-
Natural Therapy, Olive and Milk	1,7675	-	-	-	-
Palmolive, Mediterranean Moments	1,6453	-	-	-	-
Krémy a tlová mléka					
Avon Care, Dryskin ótlové mléko	1,3386	-	-	-	-
Avon Care, Hand and Nail	1,4759	-	-	-	-
Eucerin 50 - opalovací krém	0,8126	0,3	-	-	-

Londena - krém na ruce	1,2153	-	-	-	-
Nivea, Happy Time o t lové mléko	1,6263	-	-	-	-
istící a prací prost edky					
Clin - istí oken	1,3031	0,2	-	-	-
Formil Colour - prací prá-ek	0,6013	-	-	-	-
Pronto - istí proti prachu	1,4607	-	-	-	-
Real, Levandule - tekutý istící písek	1,2493	0,2	-	-	-
Silan, Aromatherapy - aviváfl	0,6135	0,3	-	-	-
Tablety do my ky					
Finish, Powerball	0,7923	-	-	-	-
Jar, Platinum	0,9193	-	-	-	-
W5 Classic, Lidl	0,9171	-	-	-	-
Dal-í					
Gillete Mach 3 - gel na holení	1,9363	0,5	-	-	-
Tectane - auto-ampon	2,4070	-	1,0	-	-
Wellaflex - lak na vlasy	0,6954	1,1	4,2	-	-

4.1.4 Analýza pracovního prost edí

4.1.4.1 Lak na vlasy

Pro testování možnosti detekce syntetických pífem v pracovním ovzdu-í byl zvolen modelový p íklad aplikace kosmetického p ípravku ó laku na vlasy ó jeho fl ú inků je tak vystaven jak p íslu-ný jedinec, tak osoby v jeho blízkosti. Typickou situací m fl být náv-t va divadla nebo jiné společenské akce, kde lze p edpokládat aplikaci r zných p ípravk s obsahem syntetických pífem a jejich postupné uvol ování do prost edí (do ovzdu-í) v n mfl se vyskytují dal-í osoby. Tato situace byla modelována aplikací laku na vlasy na papírový kapesník. Kapesník byl umíst n v uzav ené místnosti a v jeho blízkosti (50 cm) bylo umíst no extrak ní vlákno po dobu 60 minut. Za t chto podmínek bylo na vlákn zachyceno detekovatelné množství galaxolidu a tonalidu. Byla tak prokázána schopnost extrak ního vlákna detekovat syntetická píflma rozptýlená v ovzdu-í po aplikaci p íslu-ných kosmetických prost edk .

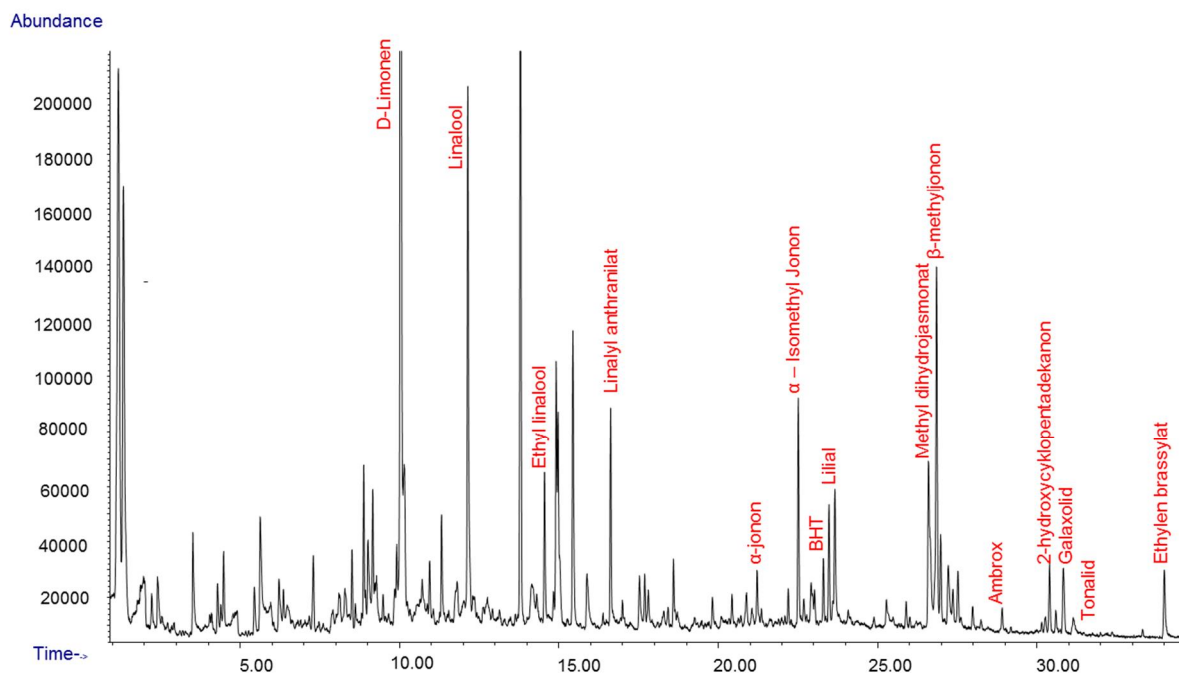


Obr. 23: Ionový chromatogram pro iont 243 m/z; analýza ovzduší po aplikaci laku na vlasy

4.1.4.2 Parfumerie

Z hlediska reálné kontroly pracovního prostředí je vyhraněným případem pracovní prostředí v obchodech a provozovnách spojených s užíváním parfémovaných kosmetických přípravků. V rámci studie bylo pomocí SPME extrakce testováno pracovní ovzduší v parfumerii. Chromatografický záznam příslušné analýzy je uveden na Obr. 24.

V pracovním ovzduší parfumerie bylo detekováno široké spektrum látek, mezi nimi i syntetická pířma. Na chromatogramu jsou viditelné píky nejen galaxolidu a tonalidu, jakofito nejfrekvencovanější zástupce polycyklických i celkově syntetických pířem. Byla detekována i pířma makrocyklická, například ethylenbrasilát. V ovzduší parfumerie se dále vyskytuje celá řada terpenových uhlovodíků (limonen, linalool, jonon), které také v určité koncentraci negativně působí na lidský organismus (například alergické reakce).



Obr. 24: Celkový iontový chromatogram (TIC); analýza ovzduší parfumerie

4.2 Analýza odpadní vody

4.2.1 Účinnost SPE

Pro analýzu vzorků vod byla navržena metoda extrakce tuhou fází s využitím SPE kolonek s polymerním sorbentem (Oasis HLB). Účinnost byla ověřena opakovanou extrakcí, kdy byl na kolonku aplikován standardní vodný roztok obsahující sledovaná pířlma na koncentračních úrovních 20 $\mu\text{g/l}$ a 400 ng/l . Nezachycená rezidua pířlem byla následně extrahována dichlormethanem a výsledky analýz extraktů z SPE i z extrakce dichlormethanem byly vyjádřeny v procentech účinnosti SPE extrakce (Tab. VIII).

Tab. VIII: Účinnost SPE extrakce

	Účinnost SPE pro koncentraci 20 µg/l	Účinnost SPE pro koncentraci 400 ng/l
Galaxolid	91,8 %	50,9 %
Tonalid	97,6 %	89,6 %
MK	92,2 %	100,0 %

4.2.2 Účinnost amponové a mýdlové vody

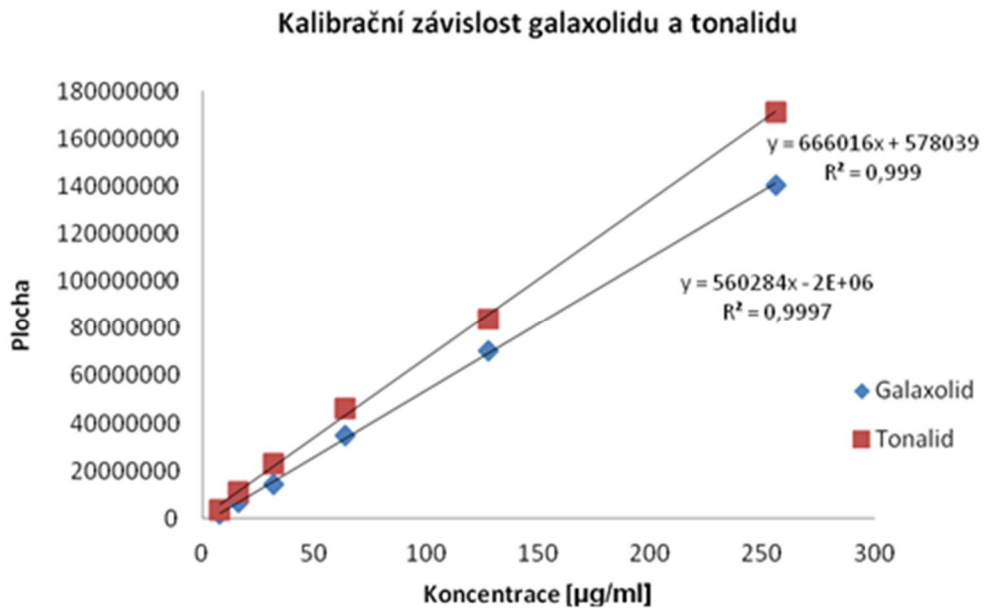
Vzhledem k výsledkům screeningové analýzy, kde byla nalezena syntetická píflma ve více jak polovině případů, byla provedena analýza vzorků odpadní vody, kterou běžně produkují tisíce domácností, průmyslových podniků a jiných institucí a provozoven. Experiment s amponovou a mýdlovou vodou měl za cíl prokázat, v jakém množství jsou syntetická píflma produkována při běžném umývání rukou nebo mytí vlasů.

Analyty byly ze vzorků vody extrahovány pomocí SPE. Tato metoda byla zvolena na základě předchozího experimentu, kde bylo zjištěno, že SPE kolonky syntetická píflma zachycují (zejména galaxolid a tonalid).

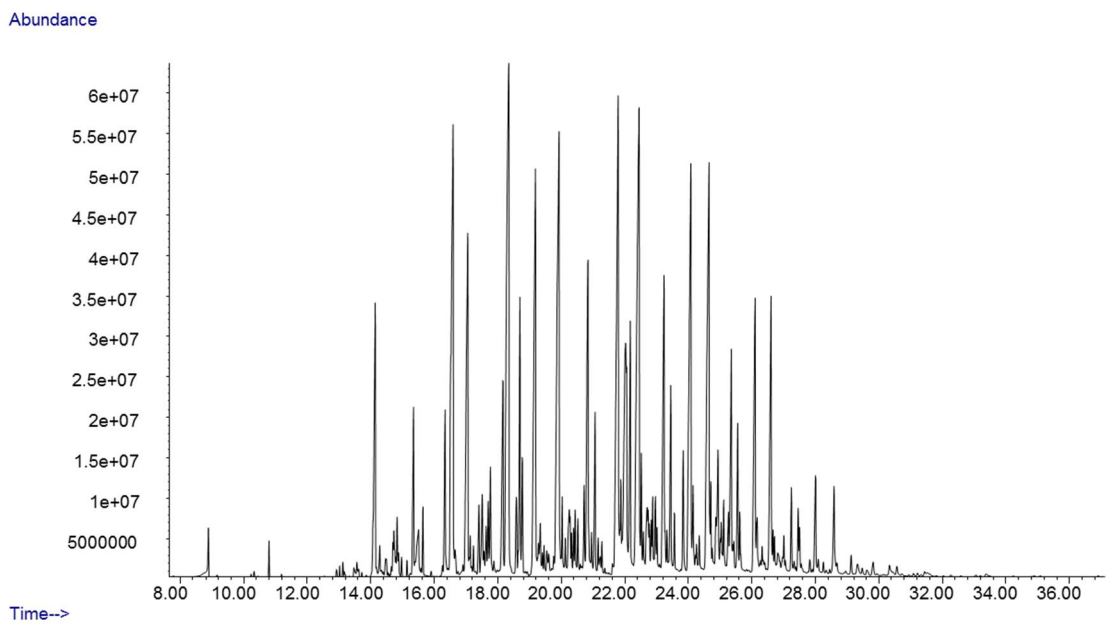
Ve vzorku amponové vody byl detekován galaxolid a tonalid a ve vzorku mýdlové vody byl přítomen galaxolid. Kvantifikace byla provedena na základě proměnné kalibrační závislosti pro oba nalezené analyty (Obr. 25). Výsledky analýzy jsou uvedeny v tabulce (Tab. IX). Celkový iontový chromatogram analýzy amponové vody je uveden Obr. 26 a) a iontový chromatogram pro iont 243 m/z je na Obr. 26 b).

Tab. IX: Koncentrace galaxolidu a tonalidu ve vzorcích odpadní vody

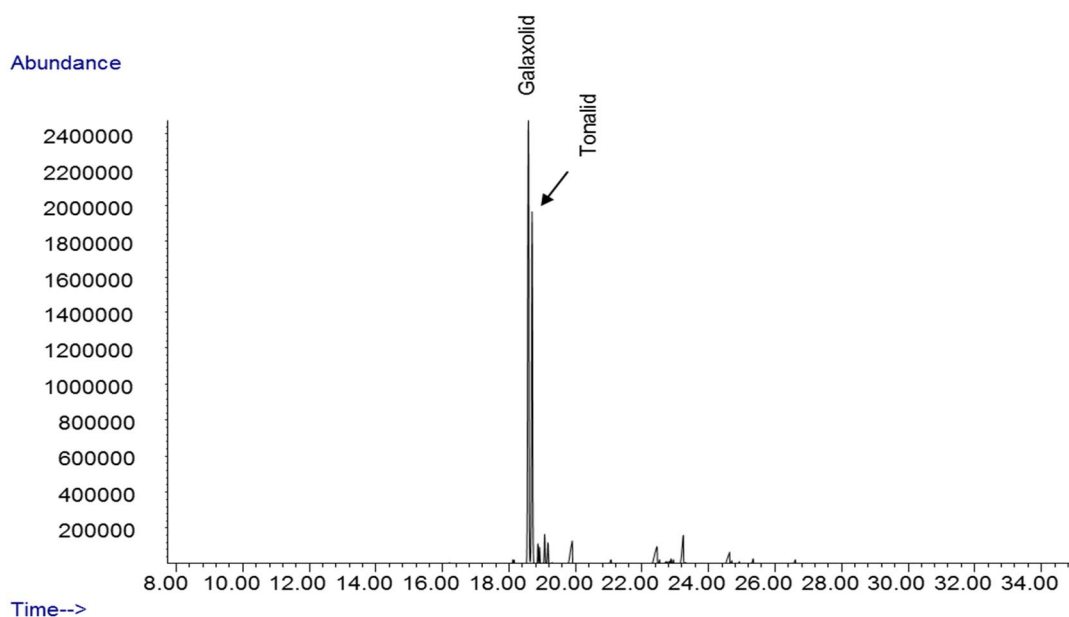
	Amponová voda [µg/ml]	Mýdlová voda [µg/ml]
Galaxolid	172,8	82,1
Tonalid	27,3	-



Obr. 25: Kalibrační závislost koncentrace galaxolidu na ploše píku



Obr. 26 a): Iontový chromatogram (TIC); analýza amponové vody



Obr. 26 b): Iontový chromatogram pro iont 243 m/z; analýza –amponové vody

4.3 Analýza vzorků říční vody

Dlouholeté studie dokazují přítomnost syntetických pířím ve všech složkách řířivního prostředí, zvlášt pak ve vodních tocích. Jelikoř se vyskytují v odpadních vodách a OV zatím nedisponují technologiemi, které by syntetická pířma zcela odstranily, jsou přítomny i v povrchových vodách.

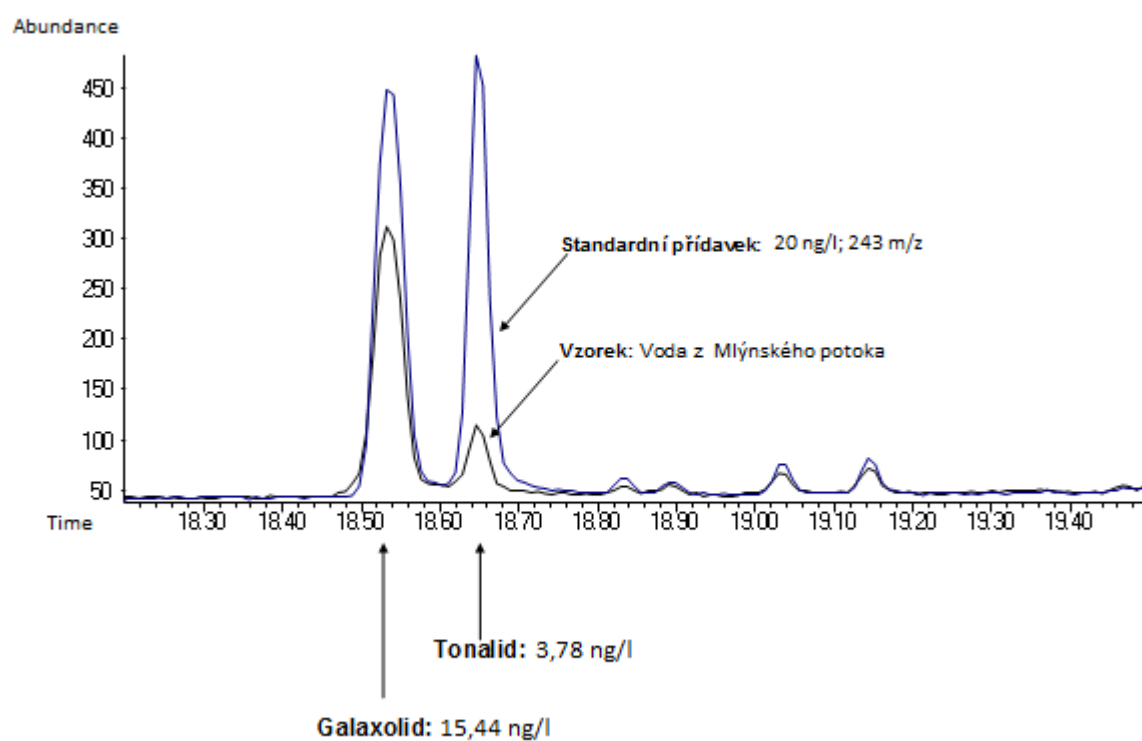
Pro analýzu byly vybrány vzorky říční vody, které byly odebrány ze t ech vodních tok v Olomouci, a to z eky Moravy a ze dvou jejích p řítok , Mlýnského potoka a Byst ice. Ve všech t ech vzorcích byla přítomna syntetická pířma galaxolid a tonalid. Ostatní pířma detekována nebyla.

Pro kvantifikaci byla pouřita metoda standardního p řídavku. Koncentrace standardního p řídavku ěnila 20 ng/l. V p řípád galaxolidu bylo ovšem pro výsledný výpo et tuto hodnotu nutno korigovat z d vodu jeho 70 % istoty. Koncentrace pro galaxolid byly tedy po řítány s p řídavkem 14 ng/l. Výsledky analýzy říční vody jsou uvedeny v tabulce (Tab. X). Rekonstruovaný iontový chromatogram je na Obr. 27.

Z výsledk analýzy lze usuzovat na p etrvávající výskyt syntetických pířím v řířivním prostředí.

Tab. X: Koncentrace galaxolidu a tonalidu v í ní vod v Olomouci

	Mlýnský potok [ng/l]	Morava [ng/l]	Byst ice [ng/l]
HHCB	15,44	10,87	8,28
AHTN	3,78	5,87	2,55



Obr. 27: Ionový chromatogram pro iont 243 m/z; analýza vody z Mlýnského potoka

5 ZÁV R

Cílem studie bylo posouzení možnosti analýzy vybraných syntetických pířem plynovou chromatografií. V rámci e-ení byl navržen jednoduchý postup založený na mikroextrakci tuhous fází (SPME), vhodný pro screeningovou (spí-e kvalitativní) analýzu r zných typ vzork , a postup vyuffívající konven ní extrakce tuhous fází (SPE) pro analýzu vzork vod (vhodný i pro kvantitativní ú ely). Díky tomu bylo možné sledovat výskyt syntetických pířem v írokém rozmezí koncentrací, ve velmi rozmanitých maticích a v r zných stadiích jejich aplikace od samotných komer ních p ípravk s obsahem t chto látek, p es odpadní vody vznikající po aplikaci t chto p ípravk , jejich uvol ování do (pracovního) ovzdu-í afl po jejich kone ný výskyt v povrchových vodách.

Z celkového po tu 70 testovaných p ípravk byla alespo jedna ze sledovaných slou enin detekována v 39 p ípadech. Odhadované koncentrace dosahovaly v n kterých p ípadech hodnot na úrovni jednotek afl desítek mg/kg. Podobn univerzální byl výskyt hlavních zástupc ve vzorcích povrchových vod odebraných ze t í hlavních vodních tok v Olomouci, kde cílové koncentrace galaxolidu a tonalidu dosahovaly hodnot na úrovni jednotek afl desítek ng/l. Na základ získaných poznatk a známých vlastností syntetických pířem lze p edpokládat, že tato skupina látek bude i do budoucna významnou skupinu organických polutant . Dal-í studium t chto látek a vývoj odpovídajících metod pro jejich citlivou a selektivní analýzu by tak m l i nadále z stat v centru pozornosti moderní analytické chemie.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AHTN	Tonalid
CAR	Carboxen
CAS	Registrační číslo pro chemické látky
CITES	Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora
CW	Carbowax
OV	úprava odpadních vod
DVB	Divinylbenzen
ECD	Detektor elektronového záchytu
ECHA	Evropská agentura pro chemické látky
EI	Elektronová ionizace
FID	Plameno-ionizační detektor
GC	Plynová chromatografie
HHCB	Galaxolid
HPLC	Vysokou rychlostí kapalinová chromatografie
HS	Head-space
HS-SPME	Head-space mikroextrakce tuhou fází
IFRA	International Fragrance Association
LC	Kapalinová chromatografie
LD ₅₀	Letální dávka (množství látky způsobující úmrtnost 50 % testovaných zvířecích)
LLME	Liquid-Liquid Microextraction

LPME	Liquid-Phase Microextraction
MA	Ambrettové píflmo
MASE	Membrane Assited Solvent Extraction
MEPS	Microextraction by Packed Sorbent
MK	Ketonové píflmo
MS	Hmotnostní spektrometrie
MX	Xylenové píflmo
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development
PA	Polyakrylát
PDMS	Polydimethylsiloxan
POPs	Perzistentní organické polutanty
PPCPs	Pharmaceutical and Personal Care Products
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
SDME	Single-Drop Microextraction
SIM	Reflim sledování vybraných iont
SPE	Extrakce tuhous fází
SPME	Mikroextrakce tuhous fází
TIC	Reflim celkového iontového proudu
USAEME	Ultrasound Assited Emulsification Microextraction
fiP	fiivotní prost edí

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Pehle T., Jonas S.: *Parfém*, Rebo International, Lisse 2009.
- [2] <http://www.parfemista.cz/historie-parfemu.html> (1. 3. 2014).
- [3] Rimkus G.G.: *Synthetic Musk Fragrances in the Environment*, 10.1007/s00216-006-0671-3, Springer (2004).
- [4] Červený L.: Chem. Listy **93**, 412 (1999).
- [5] Velíšek J., Hajlová J.: *Chemie potravin II.*, 3.vydání, OSSIS, Havlíčkův Brod 2009.
- [6] Hlava B., Starý F., Pospíšil F.: *Rostliny v kosmetice*, Artia, Praha 1987.
- [7] <http://www.tech-info.cz/parfumerie> (28. 3. 2014).
- [8] Šífková A., Adam M., Pavlíková P, Ventura K.: Chem. Listy **105**, 13 (2011).
- [9] <http://www.biotox.cz/toxikon/rostliny/silice.php> (28. 3. 2014).
- [10] http://www.essentia-studio.cz/Site/Aromaticke_latky.html (29. 3. 2014).
- [11] Grosjean N.: *Velká kniha aromaterapie*, Fontána, Olomouc 2003.
- [12] Germann G., German P.: *Rostliny pro aromaterapii*, Grada Publishing a.s., Praha 2013.
- [13] <http://www.fragrantica.com/notes/Musk-4.html> (15. 3. 2014).
- [14] <http://www.arome.cz/clanky/kolik-pizem-znas-1/> (16. 3. 2014).

- [15] http://www.zooplzen.cz/zvirata/druhy/savci/iid_190/kabar-pizmovy.aspx (10. 3. 2014).
- [16] <http://www.alatarji.cz/alatarji-cz/5-CO-JE-DOBRE-VEDET/8-Pizmo> (17. 4. 2014).
- [17] Shrestha M.N.: Appl. Anim. Behav. Sci. **59**, 2476249 (1998).
- [18] <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=323> (12. 2. 2014).
- [19] <http://botanika.wendys.cz/kytky/K302.php> (16. 3. 2014).
- [20] Salvito D.: Environ. Health Perspect. **113**, 802-803 (2005).
- [21] Wang I.-T., Cheng S.-F., Tsai S.-W: J. Chromatogr. A **1330**, 61-62 (2014).
- [22] Zouhar L.: *Studium pr niku „muskō slou enin do abiotických sloflek vodních ekosystém* . Autoreferát dizerta ní práce, Vysoké u ení technické, Brno 2013.
- [23] Dolefalová Weissmannová H., TM pánková I., Vávrová M., Lap íková A.: Chem. Listy **107**, 172-173 (2013).
- [24] Taylor M.K., Weisskopf M., Shine J.: Environ. Health **13**, 2-5 (2014).
- [25] <http://www.greenpeace.org/czech/PageFiles/211954/perfume-an-investigation-of.pdf> (31. 3. 2014).
- [26] Rimkus G.G., Wolf M.: Chemosphere **33** (10), 2033 (1996).
- [27] Budd L.: *Synthetic musks*, The Encyclopedia of Earth, 2013
<http://www.eoearth.org/view/article/156387/> (31. 3. 2014)

- [28] Vávrová M., Kubíková K., Zouhar L., Mravcová L., Šáslavský J.: Chem. Listy **104**, 620 (2010).
- [29] <http://www.guidechem.com/> (19. 4. 2014).
- [30] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (19. 4. 2014).
- [31] Pybus D.H., Sell Ch.S.: *The Chemistry of Fragrances*, The Royal Society of Chemistry, Velká Británie 2004.
- [32] Ippen H.: Int Arch. Occup. Environ. Health **66** (4), 283-284 (1994).
- [33] Neamtu M., Siminiceanu I., Kettrup A.: Chemosphere **40**, 1408-1409 (2000).
- [34] Hawkins D.R., Elsom L.F., Kirkpatrick D., Ford R.A., Api A.M.: Toxicol. Lett. **131**, 147-148 (2002).
- [35] Emig M., Reinhardt A., Mersch-Sundermann V.: Toxicol. Lett. **85**, 151-156 (1996).
- [36] Schmeiser H.H., Gminski R., Mersch-Sundermann V.: Int. J. Hyg. Environ. Health **203**, 293-299 (2001).
- [37] Chou Y.-J., Dietrich D.R.: Toxicol. Lett. **111**, 18 (1999).
- [38] Zeng X., Sheng G., Xiong Y., Fu J.: Chemosphere **60** (6), 818 (2005).
- [39] Rimkus G.G.: Toxicol. Lett. **111** (1-2), 39 (1999).
- [40] Villa S., Vighi M., Finizio A.: Sci. Total Environ. **481**, 28 (2014).
- [41] Bester K.: J. Chromatogr. A **1216** (3), 474 (2009).
- [42] Chen D., Zeng X., Sheng Y., Bi X., Gui H., Sheng G., Fu J.: Chemosphere **66** (2), 253 (2007).

- [43] Reiner J.L., Kannan K.: *Water Air Soil Poll.* **214** (1-4), 335 (2011).
- [44] Shek W.M., Murphy M.B., Lam J.C.W., Lam P.K.S.: *Chemosphere* **71** (7), 1241-1241 (2008).
- [45] Abramsson-Zetterberg L., Slanina P.: *Toxicol. Lett.* **135**, 155-156 (2002).
- [46] Eh M.: *Chem. and Biodivers.* **1** (12), 1975-1976 (2004).
- [47] Seyfried M., Boschung A., Miffon F., Ohleyer E., Chaintreau A.: *Elucidation of the upper pathway of alicyclic musk Romandolide degradation in OECD screening tests with activated sludge*, 10.1007/s11356-013-2347-9, Springer (2013).
- [48] Lopez-Nogueroles M., Lordel-Madeleine S., Chisvert A., Salvador A., Pichon V.: *Talanta* **110**, 128-130 (2013).
- [49] Dong H., Tang H., Chen D., Xu T., Li L.: *Talanta* **120**, 248-249 (2014).
- [50] Kuklenyik Z., Bryant X.A., Needham L.L., Calafat A.M.: *J. Chromatogr. B* **858** (1-2), 177-179 (2007).
- [51] Cavalheiro J., Prieto A., Monperrus M., Etxebarria N., Zuloaga O.: *Anal. Chim. Acta* **773**, 69 (2013).
- [52] Vallecillos L., Pocurull E., Borrull F.: *J. Chromatogr. A* **1314** (1), 38 (2013).
- [53] Augusto F., Leite e Lopes A.: *TrAc ó Trend. Anal. Chem.* **22** (3), 160-161 (2003).
- [54] wir-Ferenc A., Biziuk M.: *Polish J. of Environ. Stud.* **15** (5), 677-685 (2006).

- [55] Chung W.-H., Tzing S.-H., Ding W.-H.: *J. Chromatogr. A* **1307**, 34 (2013).
- [56] Pawliszyn J.: *TrAc ó Trend. Anal. Chem.* **14** (3), 116 (1995).
- [57] Poole C.F.: *TrAc ó Trend. Anal. Chem.* **22** (6), 362-366 (2003).
- [58] Rouself R., Cadwallader K.: *Headspace Analysis of Foods and Flavours*, Plenum, New York 2001.
- [59] <http://www.lambda.sk/pdf/metodiky/SPME.pdf> (14. 4. 2014).
- [60] http://fvhe.vfu.cz/export/sites/fvhe/adresa/sekce_ustavy/uvozp/Teorie_SPME.pdf (14. 4. 2014).
- [61] Kim K.-S., Lee J.-M., Hong Ch.-H.: *Food Sci. Technol. Int.* **37** (5), 559-600 (2004).
- [62] <http://www.sigmaaldrich.com/img/assets/15720/11.pdf> (14. 4. 2014).
- [63] Pawliszyn J.: *Applications of Solid Phase Microextraction*, Royal Society of Chemistry, Velká Británie 1999.
- [64] Bojko B., Cudjoe E., Gómez-Ríoz G.A., Gorynsky K., Jiang R., Reyer-Garcés N., Risticovic S., Silva E.S.A., Togunde O., Vuckovic D., Pawliszyn J.: *Anal. Chim. Acta* **750**, 132-151 (2012).
- [65] Ulrich S.: *J. Chromatogr. A* **902**, 188 (2000).
- [66] Wang Y.-Ch., Ding W.-H.: *J. Chromatogr. A*, **1216** (40), 6858 (2009).

[67] Regueiro J., Garcia-Jares C., Llompарт M., Pablo Lamas J., Cela R.: J. Chromatogr. A, **1216** (14), 2805-2806 (2009).

[68] Garcia-Jares C., Llompарт M., Polo M., Salgado C., Macias S., Cela R.: J. Chromatogr. A **963**, 277-285 (2002)

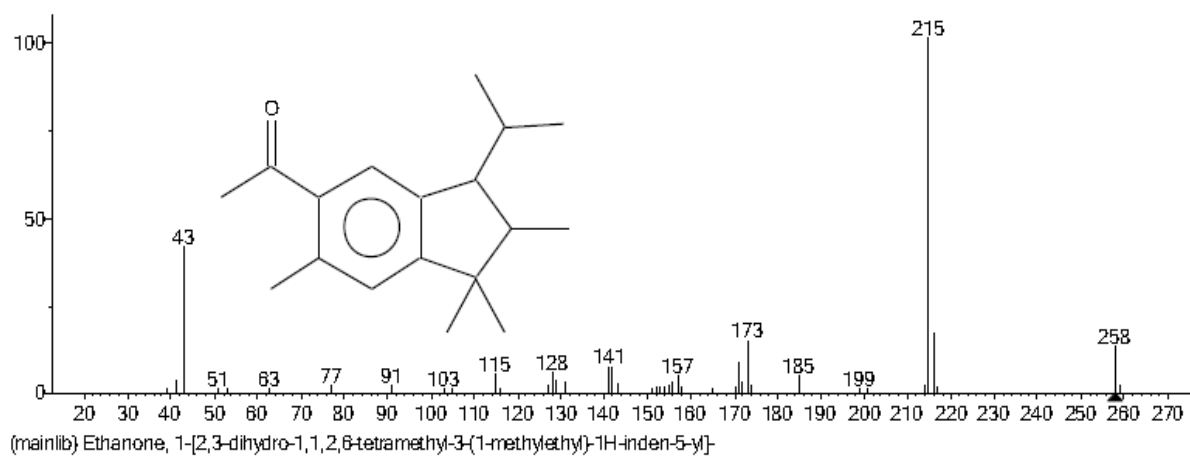
8 P ÍLOHY

P íloha . 1: MS spektra sledovaných analyt

Traseolid

Formule: $C_{18}H_{26}O$

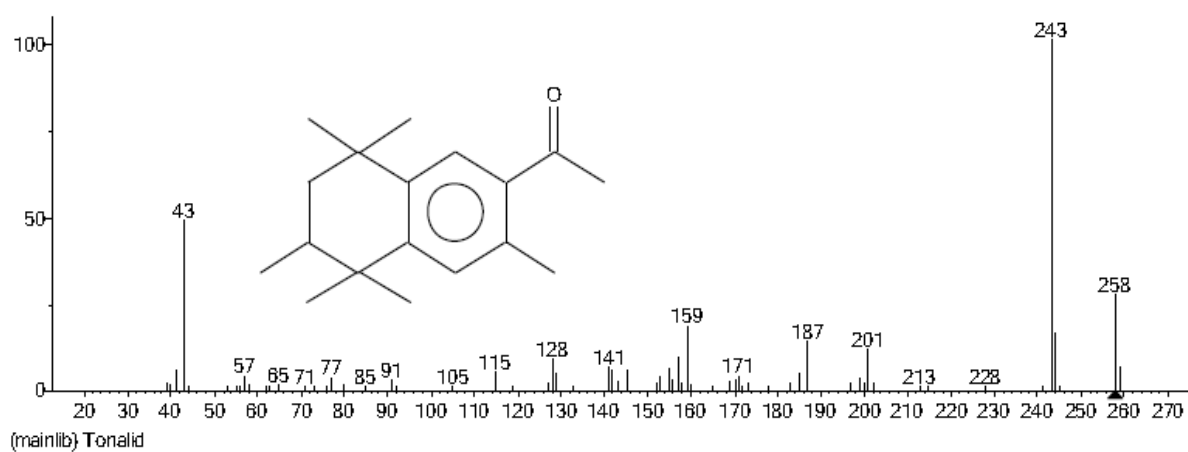
MW: 258



Tonalid

Formule: $C_{18}H_{26}O$

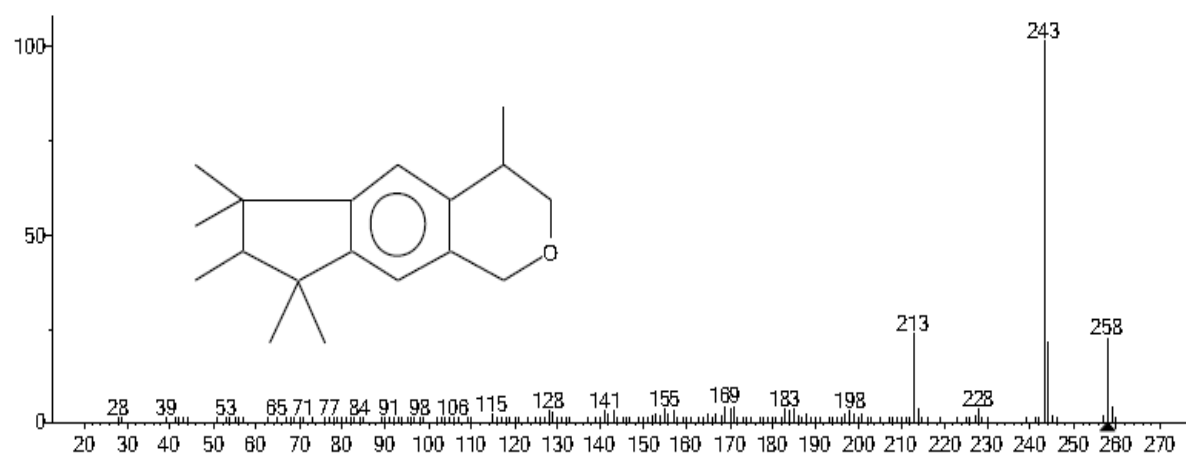
MW: 258



Galaxolide

Formula: $C_{18}H_{26}O$

MW: 258

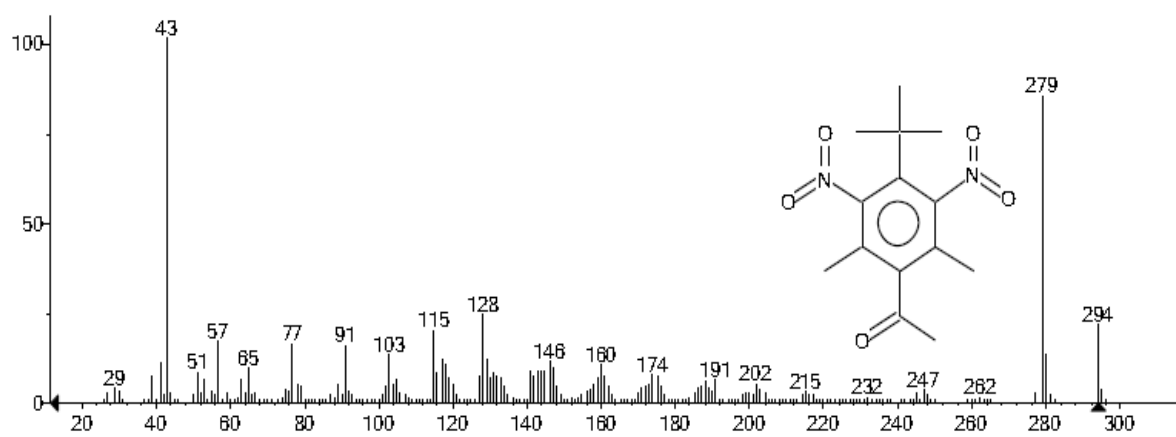


(mainlib) Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-

Ketone musk

Formula: $C_{14}H_{18}N_2O_5$

MW: 294

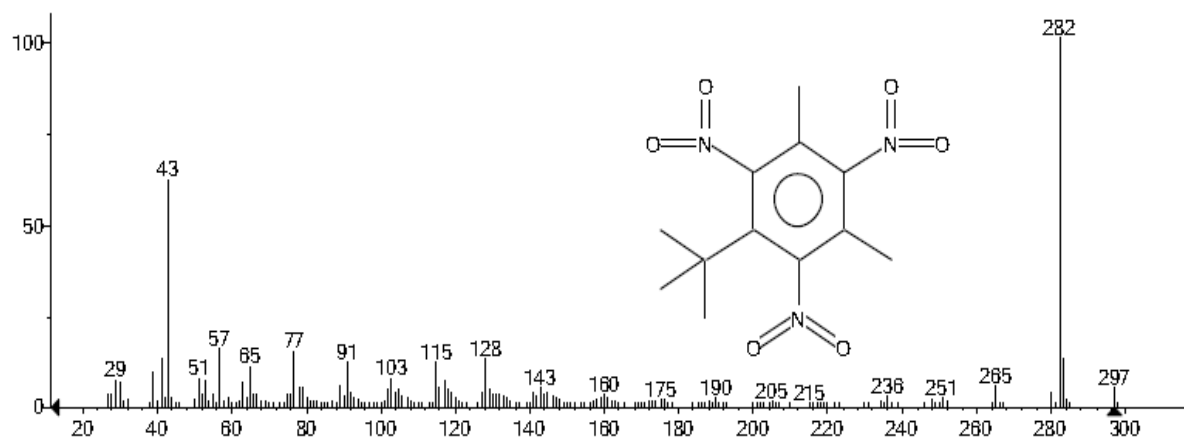


(mainlib) Acetophenone, 4'-tert-butyl-2',6'-dimethyl-3',5'-dinitro-

Xylene musk

Formula: $C_{12}H_{15}N_3O_6$

MW: 297

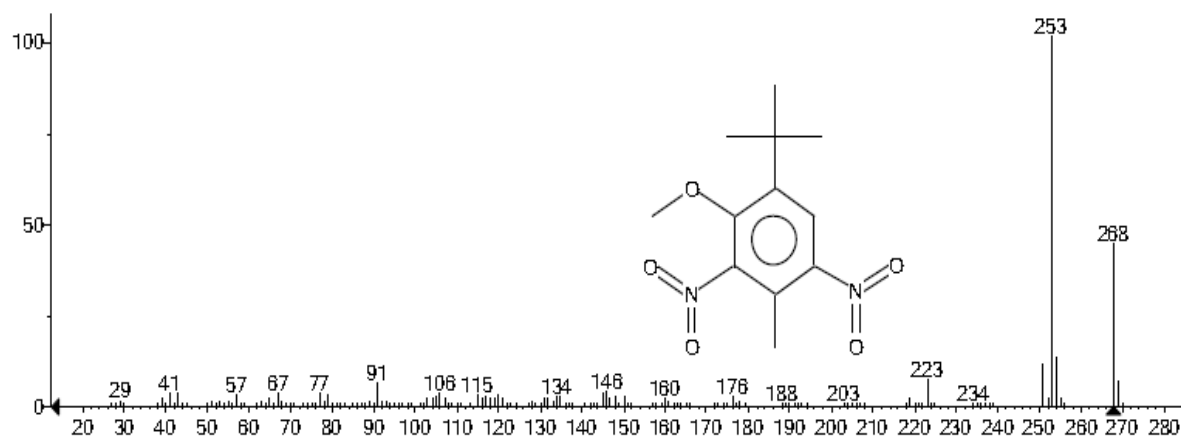


(mainlib) Benzene, 1-(1,1-dimethylethyl)-3,5-dimethyl-2,4,6-trinitro-

Ambrette musk

Formula: $C_{12}H_{16}N_2O_5$

MW: 268



(mainlib) Benzene, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methoxy-4-methyl-3,5-dinitro-

Príloha 2: Analýza ovzduší po aplikácii laku na vlasy na kapesníček



Obr. 28: Kapesníček po aplikácii laku na vlasy, lak na vlasy, SPME vlákno