

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO  
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

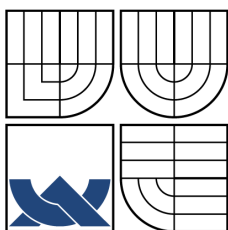
STANOVENÍ TĚKAVÝCH ORGANICKÝCH LÁTEK METODOU "HEAD  
SPACE - SPME"  
V REÁLNÝCH VZORCÍCH POVRCHOVÉ A PITNÉ VODY

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

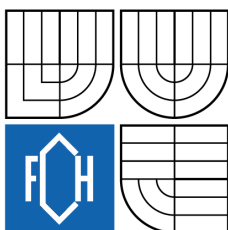
AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Bc. MILAN CHMELKA

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ  
FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL  
PROTECTION

# STANOVENÍ TĚKAVÝCH ORGANICKÝCH LÁTEK METODOU "HEAD SPACE - SPME" V REÁLNÝCH VZORCÍCH POVRCHOVÉ A PITNÉ VODY

ESTIMATION OF VOLATILE ORGANIC MATTER BY "HEAD SPACE - SPME" METHOD IN  
REAL SAMPLES OF SURFACE AND DRINKING WATER

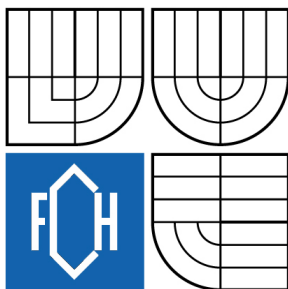
DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Bc. MILAN CHMELKA

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

RNDr. JOSEF KUPEC



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce	<b>FCH-DIP0211/2007</b>	Akademický rok: <b>2007/2008</b>
Ústav	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka)	<b>Chmelka Milan Bc.</b>	
Studijní program	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí diplomové práce	<b>RNDr. Josef Kupec</b>	
Konzultanti diplomové práce	RNDr. Jaroslav Mega, Ph.D.	

### Název diplomové práce:

Stanovení těkavých organických látek metodou "head space - SPME"  
v reálných vzorcích povrchové a pitné vody

### Zadání diplomové práce:

Zpracování literární rešerše k problematice výskytu těkavých organických látek v povrchové a pitné vodě, se zvláštním zřetelem výskyt vedlejších produktů desinfekce pitné vody.  
Získání praktických poznatků při použití metody "head space - SPME" při analýze reálných vzorků vody.

### Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

---

Bc. Milan Chmelka  
student(ka)

---

RNDr. Josef Kupec  
Vedoucí práce

---

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

---

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Těkavé organické látky se ve vodě většinou vyskytují jako polutanty lidského původu. Vznikají i sekundárně, přímo ve vodě, jako vedlejší produkty desinfekce vody. Teoretická část této práce se zabývá charakteristikou a výskytem organických látek ve vodě. Současně pojednává i o možnostech jejich kvalifikace a kvantifikace. Rozsáhlejší popis byl věnován stěžejní metodě této práce, a to statické head space technice spojené s extrakcí analytu na křemenném vlákne potaženém sorbentem neboli SPME. Náplň experimentální části spočívala v získání zkušeností s obsluhou měřicího přístroje a způsobem vyhodnocování výsledků. Samotnému měření reálných vzorků vody předcházela optimalizace metody. Po všech těchto krocích následoval výběr lokalit, odběr a konečně analýza. Vzorky byly odebírány z vody povrchové, vodovodní a odpadní.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

povrchová voda, pitná voda, těkavé organické látky, head space, SPME

## **ABSTRACT**

Volatile organic compounds are mostly found in the water as contaminants of human origin. These compounds are also formed in secondary processes as by-products of disinfection. Theoretical part of the thesis is focused on characteristic and occurrence of volatile compounds. At the same time it also deals with possibilities of their qualification and quantification. Extensive description has been focused on head space technique combine with extraction of analyte on quartz fiber coated by the sorbent. This kind of extraction is also known as SPME (Solid Phase Microextraction). The objection of the experimental part was gaining experience with operating the device/instrument used for measuring. Before the analysis of real samples was performed an optimization of method. After these steps was selected locality for sampling followed by own analysis. Surface, drinking and waste water was measured.

## **KEYWORDS**

surface water, drinking water, volatile organic matter, head space, SPME

CHMELKA, M. *Stanovení těkavých organických látek metodou „head space - SPME“ v reálných vzorcích povrchové a pitné vody.* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 76 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Josef Kupec.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
podpis studenta

### *Poděkování:*

*Na tomto místě bych rád poděkoval panu Ing. Zdeňku Pospíšilovi za rady při práci v laboratoři VÚV Brno, vedoucímu své diplomové práce RNDr. Josefu Kupcovi. Dále pak děkuji své rodině za finanční a morální podporu a svému bratrově Ing. Lukáši Chmelkovi za rady ohledně sazby této práce.*

# OBSAH

<b>1 Úvod</b>	<b>8</b>
<b>2 Teoretická část</b>	<b>9</b>
2.1 Výskyt organických látek ve vodách . . . . .	9
2.2 Rozdělení těkavých organických látek . . . . .	10
2.2.1 Halogenderiváty uhlovodíků . . . . .	10
2.2.2 Vedlejší produkty dezinfekce vody . . . . .	13
2.2.3 Těkavé aromatické uhlovodíky . . . . .	16
2.2.4 Organická rozpouštědla ve vodách . . . . .	18
2.3 Izolace těkavých organických látek . . . . .	18
2.3.1 Extrakce plynem se zkoncentrováním na tuhém sorbentu . . . . .	19
2.3.2 Extrakce rozpouštědlem . . . . .	20
2.3.3 Extrakce tuhým sorbentem (SPE) . . . . .	21
2.3.4 Statický head space . . . . .	23
2.3.5 Mikroextrakce tuhými fázemi (SPME) . . . . .	25
2.4 Základní statistické pojmy . . . . .	35
2.4.1 Interval spolehlivosti průměru . . . . .	36
2.4.2 Hladina významnosti . . . . .	36
2.4.3 Správnost výsledků . . . . .	36
2.4.4 Shodnost výsledků . . . . .	37
2.4.5 Detekční limit dle Grahama . . . . .	37
2.4.6 Detekční limit dle Miller - Millerové . . . . .	38
<b>3 Experimentální část</b>	<b>39</b>
3.1 Seznam stanovovaných látek . . . . .	39
3.2 Postup měření . . . . .	39
3.2.1 Souhrnný popis používané metody . . . . .	39
3.2.2 Měřicí přístroj . . . . .	40
3.2.3 Zařízení a pomůcky . . . . .	41
3.2.4 Chemikálie . . . . .	41
3.2.5 Odběr vzorků . . . . .	41
3.2.6 Příprava vzorku k analýze . . . . .	42
3.2.7 Nastavení přístroje . . . . .	43
3.2.8 Analýza . . . . .	43
3.2.9 Slepý pokus . . . . .	43
3.2.10 Regulační diagram . . . . .	43
3.3 Kalibrace metody . . . . .	44
3.3.1 Kontrolní vzorky . . . . .	44
3.3.2 Kalibrační funkce s použitím vnitřního standardu . . . . .	45

3.4	Optimalizace podmínek metody . . . . .	46
3.4.1	Závislost koncentrace TOL na čase . . . . .	46
3.4.2	Teplota sorpce . . . . .	47
3.5	Prohlášení k metodě . . . . .	47
3.6	Lokality odběru vzorků . . . . .	47
<b>4</b>	<b>Výsledky a diskuse</b>	<b>49</b>
4.1	Kalibrace . . . . .	49
4.2	Optimalizace podmínek metody . . . . .	52
4.3	Výsledky reálných vzorků . . . . .	54
4.3.1	Povrchová voda - Svitava, Svratka . . . . .	54
4.3.2	Povrchová voda - Ponávka . . . . .	55
4.3.3	Vodovodní voda - Brno město . . . . .	56
4.3.4	Vodovodní voda - Třebíčsko . . . . .	57
4.3.5	Vodovodní voda - Nové Město na Moravě . . . . .	58
4.3.6	Odpadní a povrchová voda - ČOV JE Dukovany . . . . .	59
<b>5</b>	<b>Závěr</b>	<b>61</b>
	<b>Seznam použitých zdrojů</b>	<b>62</b>
	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů</b>	<b>64</b>
	<b>Seznamy obrázků, grafů a tabulek</b>	<b>66</b>
	<b>Přílohy</b>	<b>68</b>



# 1 ÚVOD

S rostoucím významem lidských činností, kde se těkavé organické látky vyskytují jako suroviny, produkty, odpady, roste i riziko úniku těchto látek do životního prostředí. V minulosti nebyl na takovéto události brán zřetel, pokud nešlo o havárii, která bezprostředně ohrožovala lidské zdraví nebo životní prostředí. S rostoucími znalostmi o toxických účincích těkavých organických látek na živý organismus se začal důkladněji monitorovat výskyt těchto látek ve všech složkách životního prostředí.

Monitoring vyžaduje volbu vhodné lokality vzhledem k reprezentativnosti vzorků. Neméně důležitou součástí je i volba dostatečně selektivní analytické metody ke stanovení jak kvality, tak i kvantity sledovaných látek. Před samotnou analýzou je zapotřebí zařadit prekoncentrační prvek. Takovým prvkem může být extrakce na křemenném vlákně potaženým sorbentem neboli SMPE. Tato metoda přípravy vzorků je rychlá ekonomická a univerzální pro mnoho aplikací. Nepotřebuje rozpouštědla ani složitou aparaturu. Zachytí těkavé i netěkavé sloučeniny z plyných, kapalných a pevných vzorků. Analyty jsou poté desorbovány přímo do plynového chromatografu nebo pomocí interface do kapalinového chromatografu.

Tím, že budou monitorovány jednotlivé složky životního prostředí a následně hledat zdroj takového znečištění, se může předejít vážným dopadům na člověka i celou přírodu.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

Skupinu sloučenin, které byly hledány v reálných vzorcích vody tvoří 57 těkavých organických látek. Veškeré tyto látky lze od sebe odlišit a kvantifikovat pomocí tandemové techniky - plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (dále jen GC x MS).

Analýza reálných vzorků vody s sebou přináší řadu komplikací. Jednou z nich bývá často znečištění vzorků (nežádoucí pevné matrice, rozpuštěné látky, aj.). Musejí se proto důkladně přečišťovat, aby nedošlo ke kontaminaci citlivého přístroje, například kolony, inletu atd. Při stanovení těkavých látek se nabízí metoda, která tyto problémy dokáže řešit poměrně snadno. Tato metoda se nazývá head space a její největší výhodou je to, že odběr vzorků probíhá bez kontaktu s komplikovanými maticemi (viz. dále). Zakoncentrování odebraného analytu lze zajistit sorpcí na křemenném vlákne potaženém vhodným sorbentem, neboli metoda SPME.

### 2.1 Výskyt organických látek ve vodách

Organické látky ve vodách mohou mít zdroj buď přírodní, nebo antropogenní. Mezi přírodní organické znečištění lze zařadit výluhy z půdy a sedimentů (půdní a rašelinný humus, výluhy z listů a tlejícího dřeva), produkty životní činnosti rostlinných a živočišných organismů a bakterií. Tyto sloučeniny mají většinou biogenní zdroj, především huminové látky.

*Antropogenním zdrojem organických látek* mohou být splaškové a průmyslové odpadní vody, odpady ze zemědělství, skládky. Mohou vznikat i při úpravě vody chlorací. V této souvislosti je nutné dodat, že některé organické látky mohou být jak přírodního, tak i antropogenního původu, a proto v těchto případech nelze považovat jejich přítomnost za jednoznačný průkaz znečištění přírodních vod odpady z průmyslu, měst nebo zemědělství (např. některé alifatické a i aromatické uhlovodíky nemusí být vždy ropného původu; v malých koncentracích mohou vznikat v eutrofizovaných vodách biologickými pochody v planktoních a benthických mikroorganismech a jsou produktem metabolismu některých bakterií, plísní i rostlin).

Z hygienického i vodohospodářského hlediska je nutné rozlišovat látky podléhající biologickému rozkladu ve vodách a při čištění odpadních vod a látky biochemicky rezistentní (biologicky těžko rozložitelné), které se mohou hromadit v hydrosféře a v půdě (např. polyhalogenované organické látky, ligninsulfonany, polyaromatické uhlovodíky aj.). Znečištění vod biologicky těžko rozložitelnými látkami je nežádoucí, protože jen pomalu podléhají biologickým procesům v podzemí, povrchových a odpadních vodách a mohou přecházet až do pitné vody.

Organické látky mohou významně ovlivňovat chemické a biologické vlastnosti vod. Některé mohou:

1. Ovlivňovat barvu vody (huminové látky),

2. ovlivňovat pach a chuť (chlorované uhlovodíky, chlorfenoly, látky produkované některými mikroorganismy při jejich nadměrnému rozvoji, např. řasami a Aktinomycetami),
3. mít účinky karcinogenní, mutagenní, alergenní nebo teratogenní<sup>1</sup> (např. některé polyaromatické uhlovodíky a pesticidy, polychlorované bifenyly),
4. ovlivňovat pěnivost vody (tenzidy),
5. tvořit povrchový film na hladině a tím zhoršovat přestup kyslíku do vody (ropa, oleje),
6. ovlivňovat komplexační kapacitu vody a tím desorbovat toxické kovy ze sedimentů (NTA, EDTA).

Koncentrace organických látek ve vodě se pohybuje v širokých mezích, od stopových koncentrací v přírodních a užitkových vodách až po jednotky, popř. i desítky  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  v odpadních vodách. **Požadavky na identifikaci a kvantifikaci** se stanovují v pořadí podle důležitosti, protože separace a identifikace látek je velmi složitá, časově i finančně náročná. Stanovení látek ve stopových koncentracích má význam především u látek hygienicky závadných. [1]

## 2.2 Rozdělení těkavých organických látek

Těkavé látky obsažené ve vodách lze rozdělit do dvou hlavních kategorií, a to těkavé halogenované uhlovodíky a těkavé aromáty. Mimo to se ve vodách vyskytují další organické látky, hlavně nízkovroucí rozpouštědla, které lze také zařadit do této skupiny. [2]

### 2.2.1 Halogenderiváty uhlovodíků

#### Geneze

I když se obecně hovoří o organických halogenderivátech, jde převážně o chlorderiváty. V přírodě se prakticky netvoří žádné halogenované organické látky, i když se někdy naznačuje, že za určitých podmínek může v půdě probíhat halogenace huminových látek. Pocházejí především z komunální, průmyslové a zemědělské sféry (čistírny, strojírenský průmysl, chemický průmysl, konzervační prostředky, pesticidy).

Nasyčené **chloralkany, chloralkeny, chlorcykloalkany a chlorcykloalkeny** se v technické praxi, průmyslu a domácnostech používají jako odmašťovací a čistící prostředky, extrakční činidla a rozpouštědla.

---

<sup>1</sup>Teratologie je nauka o vrozených vývojových vadách. Mutací se rozumí spontánní nebo uměle vyvolané změny organismu s genetickými následky.

Zvláštní skupinu alifatických halogenderivátů tvoří tzv. **trihalogenmethany (THM)**, vznikající při hygienickém zabezpečení vody chlorací. THM byly poprvé zjištěny v sedmdesátých letech. Jde především o trichlormethan (chloroform -  $\text{CHCl}_3$ ), bromdichlormethan ( $\text{CHBrCl}_2$ ), dibromchlormethan ( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ ) a tribrommethan (bromoform -  $\text{CHBr}_3$ ).

K tvorbě bromderivátů stačí stopové koncentrace bromidů ve vodách, protože brom uvolněný při chloraci vody reaguje podstatně snáze s organickými prekurzory než chlor. Více o vedlejších produktech dezinfekce vody je věnováno v následující kapitole.

Z vodohospodářského a analytického hlediska se někdy odlišují **velmi těkavé halogenované uhlovodíky**, kam se zařazují fluorované, chlorované a bromované (popř. i jodované) obvykle nearomatické uhlovodíky obsahující jeden až šest uhlíkových atomů (v analytice vody jde nejčastěji o halogenderiváty methanu, ethanu a propanu). Jejich body varu se obecně pohybují asi od  $20^\circ\text{C}$  do  $220^\circ\text{C}$ .

Široké spektrum použití mají chlorované aromatické uhlovodíky. Mono-, di- a trichlorbenzeny jsou rozsáhle používány v průmyslu (rozpouštědla, výchozí surovina při výrobě některých pesticidů, součást syntetických převodových olejů aj.) a jsou obsaženy i v některých přípravcích pro domácnosti (součást některých dezodorantů). Hexachlorbenzen se používá jako pesticid. Různé aromatické chlorderiváty jsou běžně dokazovány ve znečištěných vodách. [1]

## Výskyt ve vodách

Analytické stanovení organochlorových látek je založeno na jejich zkoncentrování extrakcí kapalina-kapalina s následující plynovou chromatografií s kapilární kolonou a s detektorem elektronového záhytu. Pro stanovení velmi těkavých halogenovaných uhlovodíků je lepší použití statické head-space metody v kombinaci s plynovou chromatografií.

Vzhledem k širokému používání jsou různé organické chlorderiváty v malých koncentracích přítomny ve vodách užitkových a přírodních.

**Tab. 2.1: Koncentrace některých organických chlorderivátů v pitné vodě v ČR v roce 1996. Údaje jsou v  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$**

Sloučenina	Minimum	Maximum	Průměr
trichlormethan	0,1	63	6,8
tetrachlormethan	< 0,001	2,0	0,26
1,2-dichlorethan	0,1	3,0	0,35
1,1-dichlorethen	0,03	0,1	0,047
1,1,2-trichlorethen	0,001	30	1,5
chlorbenzen	0,01	5	0,65
dichlorbenzeny	0,001	0,59	0,78
hexachlorbenzen	< 0,001	0,014	0,001

V tab. 2.1 jsou shrnuty jejich koncentrace v pitné vodě ČR. Je nutno však dodat, že tyto koncentrace se v jednotlivých profilech značně mění a v průmyslových oblastech jsou podstatně vyšší.

Pokud se týká koncentrace trihalogenmethanů (THM), jsou přítomné ve všech vodách, které byly chlorovány. V pitné vodě se běžně pohybují v rozmezí od  $5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  do  $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Koncentrace THM  $30 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  v

dodávané pitné vodě v západočeském regionu byly v letech 1992 až 1994 překročeny jen

vyjímečně. Při chloraci odtoků z aktivace byly nalezeny koncentrace THM řádově ve stovkách  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ . [1]

## Vlastnosti

Z fyzikálně-chemického hlediska jsou nejdůležitější údaje o rozpustnosti, těkavosti a lipofilním charakteru. Rozpustnost chlorovaných uhlovodíků ve vodě je poměrně značná. Obecně se zmenšuje s počtem vázaných atomů chloru. Rozpustnost alifatických chlorderivátů je obecně větší než rozpustnost derivátů aromatických.

Z chemického hlediska je většina chlorovaných uhlovodíků značně chemicky stálá. Ve vodách, sedimentech a půdě může však probírat řada abiotických a biotických dehalogenačních reakcí. V úvahu přichází hydrolyza, dehydrohalogenace, oxidace a redukce. Tyto reakce lze schematicky znázornit takto:

- hydrolyza:  $\text{RX} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{ROH} + \text{HX}$
- dehydrohalogenace:  $-\text{CH}(\text{X})-\text{CH}- \longrightarrow -\text{CH}=\text{CH}- + \text{HX}$
- oxidace:  $-\text{CH}_2-\text{X} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow -\text{CH}(\text{OH})\text{Cl} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$
- redukce:  $\text{RX} + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{RH} + \text{X}^-$   
 $-\text{CH}(\text{X})-\text{CH}_2-\text{X} + 2\text{e}^- \longrightarrow -\text{CH}=\text{CH}_2 + 2\text{X}^-$

Z organoleptického hlediska jsou nejzávadnější chlorfenoly, následují aromatické chlorované uhlovodíky a potom alifatické chlorderiváty, které mají z uvedených skupin nejvyšší prahové koncentrace pachu i prahové koncentrace chuti.

Z biologického hlediska má většina organických chlorderivátů negativní účinky. Vzhledem ke svému lipofilnímu charakteru mají tendenci hromadit se v sedimentech, půdě, biomase vodních organismů a tukových tkáních a kontaminovat tak potravní řetězec.

Bioakumulace závisí na hodnotě logaritmu koeficientu<sup>2</sup>  $\log K_{\text{OW}}$  a na obsahu tuku ve tkáni daného organismu. Čím je hodnota  $\log K_{\text{OW}}$  a obsah tuku v organismu větší, tím se zvyšuje i hodnota bioakumulačního koeficientu.

U organických chlorderivátů se může projevit přímá toxicita, karcinogenita, mutagenita, hepatotoxicita, neurotoxicita, genotoxicita aj. Obecně lze z toxikologického hlediska rozdělit halogenované uhlovodíky do 6ti skupin:

1. Látky bez výrazného hepatotoxického účinku, avšak často s výrazným narkotickým účinkem (dichlormethan, chlorethan, 1,1,1,-trichlorethan, trichlormethan, chlorbenzen aj.),
2. látky s výrazným hepatotoxickým účinkem (trichlormethan, 1,2-dichlorethan, tetra-, penta- a hexachlorethany, PCB, chlornaftaleny aj.),
3. látky převážně s neurotoxickým účinkem (brommethan, dibrommethan, chlormethan aj.),

---

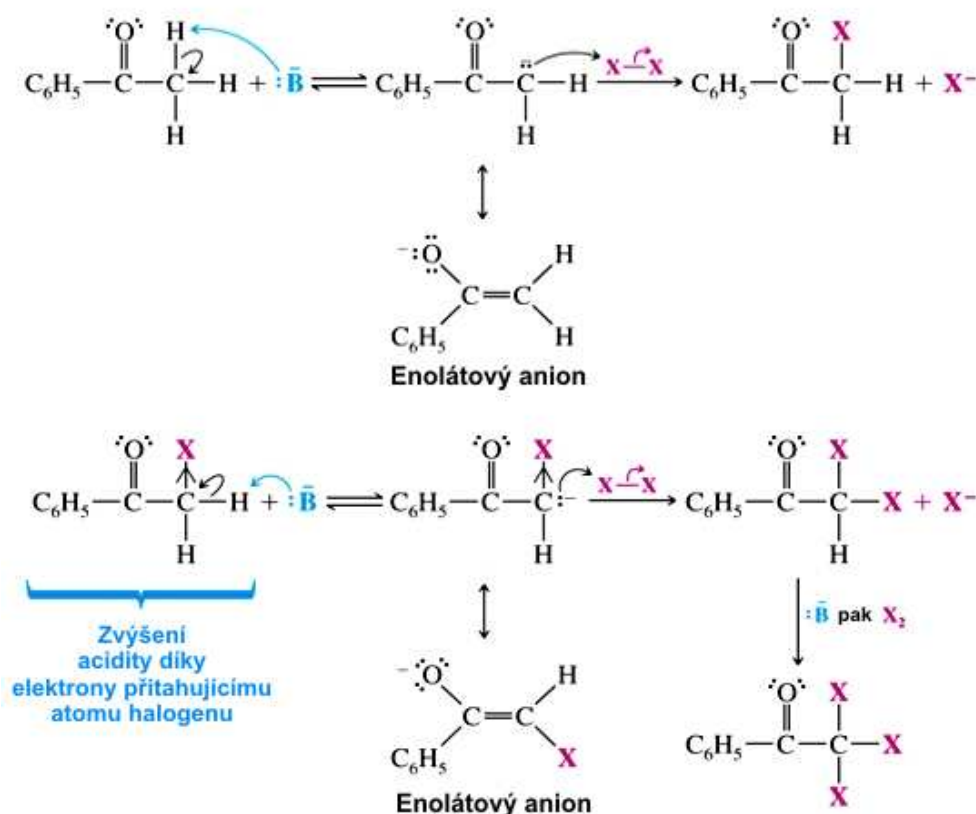
<sup>2</sup>Tento rozdělovací koeficient je popsán níže, viz. kap 2.3.2 (extrakce rozpouštědem)

4. látky s výrazným místním dráždivým účinkem (benzylchlorid, benzylbromid, hexachlorcyklopentadien aj.),
5. látky působící celkově toxicky a s dráždivým účinkem na centrální nervový systém (hexachlorbenzen, hexachlorcyklohexan, DDT a další chlorované pesticidy),
6. látky karcinogenní nebo potenciálně karcinogenní (chlorethen tzv. vinylchlorid, 1,2-dibrommethan, trichlormethan, bromdichlormethan, PCB aj.). [1]

## 2.2.2 Vedlejší produkty dezinfekce vody

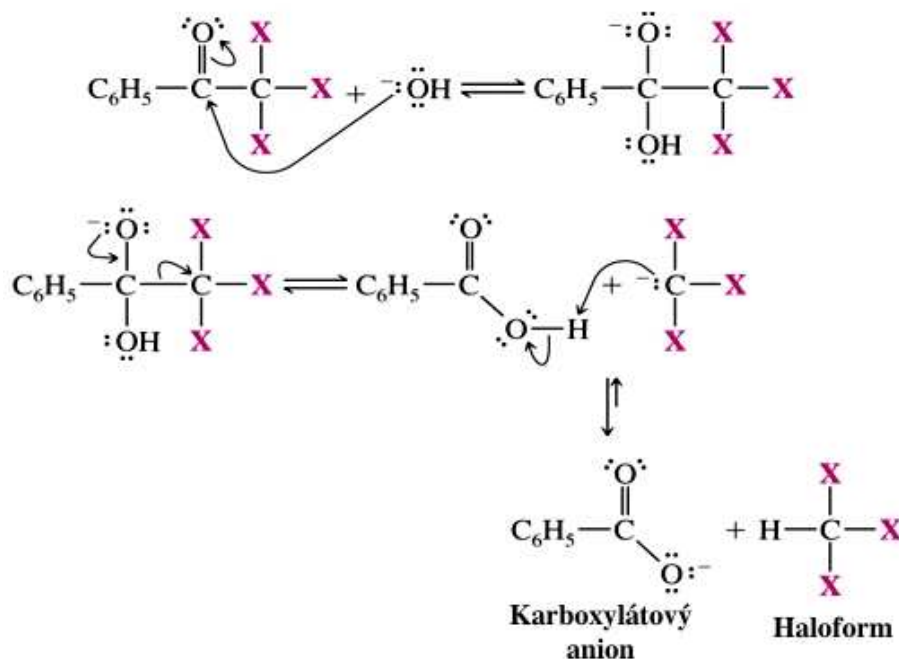
V první polovině sedmdesátých let se v pitné vodě začaly sledovat hygienicky závadné látky, které vznikaly jako vedlejší produkty dezinfekce vody. Mezi takové látky nejčastěji patří tzv. **haloformy**. Tyto látky vznikají při oxidačních a chloračních reakcích [6].

Haloformy z nichž nejčastěji trihalogenmethany vznikají tzv. **haloformovou reakcí**. Trihalogenmethany vznikají při reakci halogenu v alkalickém prostředí se sloučeninami, které mají v molekule methylketonovou skupinu. Účinkem zásady dochází k odštěpování protonů z  $\alpha$ -uhlíku vedle karbonylové skupiny a k reakci takto vzniklého karbaniontu s halogenem na trihalogenmethylalkylketon [8]. Na tomto uhlíku pak probíhá vícenásobná halogenace:



Obr. 2.1: Bazicky katalyzovaná halogenace ketonů

Hydroxidový ion atakuje karbonylový uhlík trihalo-ketonu a způsobí tak rozštěpení vazby uhlík-uhlík mezi karbonylovým uhlíkem a poměrně snadno odstupující trihalomethylovou skupinou. Tento krok je možný z důvodů neobvyklé stability této skupiny. Záporný náboj je v této skupině rozptýlen díky třem elektronegativním atomům halogenů. V posledním kroku přejde k trihalomethylové skupině proton z přítomné karboxylové kyseliny. Vznikne tak kaboxylátový anion a *haloform* (např.  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHBr}_3$ ,  $\text{CHI}_3$ ) [7].



**Obr. 2.2: Haloformová reakce - štěpení uhlíkové vazby**

K základním faktorům ovlivňujícím tvorbu vedlejších produktů dezinfekce vody je koncentrace prekursorů haloformů (humínové látky, metabolity činnosti organismů) a jejich charakter, dávka dezinfekčního prostředku (především chloru), pH, a teplota vody [6].

Se zvyšující se dávkou chloru roste i produkce vedlejších produktů dezinfekce. Např. při úpravě vody (pH 5,5,  $\text{CHSK}_{\text{Mn}}$  4,0  $\text{mg.l}^{-1}$   $\text{O}_2$  a době chlorace 24 h) vzniká při dávce chloru 3,5  $\text{mg.l}^{-1}$  32  $\mu\text{g.l}^{-1}$   $\text{CHCl}_3$  a při dávce 12,9  $\text{mg.l}^{-1}$   $\text{Cl}_2$  již 60  $\mu\text{g.l}^{-1}$   $\text{CHCl}_3$  [6]. Z dalších pokusů autora vyplývá, že přibližně dvojnásobná koncentrace chloroformu vzniká při 25 °C oproti 4 °C při jinak stejných reakčních podmínkách.

Se zvyšující se koncentrací huminových látek ve vodě značně stoupá i koncentrace vznikajících vedlejších produktů dezinfekce. Např. při pH vody 7,0, dávce chlóru 8,2  $\text{mg.l}^{-1}$  a době chlorace 24 h vzniká při koncentraci humátů 3,4  $\text{mg.l}^{-1}$  88  $\mu\text{g.l}^{-1}$   $\text{CHCl}_3$  a při koncentraci 10,6  $\text{mg.l}^{-1}$  235  $\mu\text{g.l}^{-1}$  [6].

Reakce huminových látek s chlorem za vzniku vedlejších produktů dezinfekce je jednou z nejpomalejších reakcí, které jsou ve vodárenské praxi známy. Z pokusů vyplývá, že reakce se dostává do rovnovážného stavu po 24-100 hodinách. Obecně nelze přesně říci,

jaké množství vedlejších produktů dezinfekce vzniká z jednotkového množství huminových látek, neboť měrná produkce značně závisí na reakčních podmínkách, složení vody<sup>3</sup> a povaze huminových látek. Zhruba lze však říci, že měrná produkce chloroformu se pohybuje od 10 do 50  $\mu\text{g CHCl}_3$  na 1 mg  $\text{CHSK}_{\text{Mn}}$  huminových látek [6].

Jak bylo řadou autorů prokázáno, mohou řasy a jejich metabolity rovněž poskytovat při chloraci vedlejší produkty. Při ověřovacích pokusech však bylo zjištěno, že tvorba vedlejších produktů je ve srovnání s huminovými látkami daleko nižší [6].

Značný vliv na tvorbu vedlejších produktů dezinfekce má charakter ve vodě přítomných organických látek. Experimentálně bylo zjištěno, že huminové látky o vysoké molekulové hmotnosti (10 000 až 30 000) a malé hodnotě pH poskytují při chloraci větší množství vedlejších produktů.

Omezit vznik vyšších koncentrací vedlejších produktů dezinfekce lze v zásadě třemi způsoby:

- odstraněním prekurzorů tvorby těchto produktů před chlorací vody,
- odstraněním vedlejších produktů již vzniklých,
- použitím takových dezinfekčních postupů, při nichž vedlejší produkty buď nevznikají vůbec, anebo ve velmi nízkých koncentracích.

***Odstranění prekurzorů tvorby vedlejších produktů dezinfekce*** (huminových látek, řas a jejich metabolitů) před chlorací je jedním z nejspolehlivějších způsobů snížení koncentrace těchto látek ve vodě. Odstranění prekurzorů je možno docílit dokonalejší ochranou zdroje a aplikací účinného technologického postupu úpravy vody, včetně volby optimálních podmínek úpravy (druh a dávka koagulantu, zatížení jednotlivých stupňů úpravy atp.) [6].

***Odstranění již vzniklých produktů dezinfekce*** z vody je poměrně obtížné (málo účinné a velmi nákladné<sup>4</sup>) Aplikace běžných vodárenských postupů (aeracem adsorpce na práškovitém nebo zrněném aktivním uhlí) se např. pro odstranění chloroformu ukázala jako velmi málo účinná [6].

Perspektivnější metodou pro omezení vzniku vedlejších produktů dezinfekce je použití jiných dezinfekčních činidel než chloru. Je zřejmé, že při použití fyzikálních metod hygienického zabezpečení pitné vody, např. ultrafialového záření, vedlejší produkty vznikat nemohou. Tyto metody však s sebou přinášejí jiné nevýhody. Při použití ozonizace však je nutné dochlorování, a zde již mohou zejména haloformy vznikat [6].

---

<sup>3</sup>Výtěžek chloroformu je např. značně závislý na obsahu či přídavku amonných iontů ve vodě. Při vyšší koncentraci  $\text{NH}_4^+$  iontů ve vodě chlor přednostně reaguje s těmito ionty a vzniká tak podstatně méně chloroformu.

<sup>4</sup>Vyšších efektů eliminace těchto látek z vody je možno dosáhnout úpravou vody přímo u spotřebitele především filtrací přes zrněné aktivní uhlí.



### 2.2.3 Těkavé aromatické uhlovodíky

Těkavé aromáty zahrnují hlavně monojaderné aromatické uhlovodíky (benzen, toluen, xyleny), ale také naftalen. Většina těchto látek je používána v chemickém průmyslu, při zpracování ropy apod. Při uskladnění benzínu v podzemních nádržích se mohou do spodních vod dostat uhlovodíky, hlavně bezen, toluen a xyleny, díky své relativně vysoké rozpustnosti ve vodě. [2]

Samostatnou skupinu tvoří **polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)**. Do této skupiny mimo jiné patří: naftalen, anthracen, fenanthren, acenaftylen, acenaften, fluoren, flouranthen, pyren, chrysen benz[*a*]anthracen, benzo[*a*]pyren aj. Některé PAU mohou mít i nearomatické jádro, např. acenaften, fluoren aj. [2] Ze skupiny PAU byl stanovován pouze naftalen, jakožto jedinná těkavá látka. (pozn. autora).

#### Geneze

Z antropogenních zdrojů aromatických uhlovodíků představují největší podíl spalovací procesy, zvláště při nedokonalém spalování organické hmoty (spalování tuhých a kapalných paliv, provoz motorových vozidel), některé průmyslové technologie (jako je karbonizace uhlí, krakování ropy). Dalším zdrojem mohou být lesní požáry, splachy z asfaltových povrchů vozovek, impregnace dřeva, dehtové nátěry aj. Uhlovodíky ze spalovacích procesů je kontaminována především atmosféra, odkud se suchou a mokrou depozicí dostávají do vody a půdy. Voda a půda jsou přímo kontaminovány z průmyslových odpadních vod, především při haváriích vznikajících v důsledku technických závad a chyb obsluhy při dopravě, manipulaci a skladování ropy a ropných produktů [1].

#### Výskyt ve vodách

V pitných vodách se nacházejí koncentrace PAU obvykle v jednotkách až desítkách  $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ . V podzemních a povrchových vodách se obvykle nacházejí koncentrace vyšší, v desítkách až i stovkách  $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ . Příkladem mohou být koncentrace vybraných aromatických uhlovodíků v labské vodě, shrnuté v tab 2.2.

**Tab. 2.2: Koncentrace aromatických uhlovodíků v  $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$  v labské vodě v roce 1995 (Projekt Labe)**

Uhlovodík	Minimum	Maximum	Průměr
benzen	100	550	200
toluen	50	86000	7090
1,2-xylen	50	240	110
1,3 a 1,4-xylen	50	850	210
fluoranthén	2	39	10
benzo[ <i>a</i> ]pyren	1	8	3

Vzhledem k významné **adsorbci uhlovodíků na nerozpuštěných látkách** mohou být jejich koncentrace v sedimentech řek a nádrží značné. Například koncentrace PAU přírodního původu v sušině sedimentů se odhaduje na jednotky  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . [1]

## Vlastnosti a význam

Při styku uhlovodíků s vodou může docházet k jejich rozpouštění, těkání, emulgaci, sorpci na tuhých fázích, fotooxidaci a biochemickému rozkladu.

Uhlovodíky ve vodách zhoršují jejich organoleptické vlastnosti, mohou působit toxicky na vodní organismy a povrchové filmy omezují přístup vzdušného kyslíku do vody, čímž je nepřímo ovlivněna její samočistící schopnost [1].

**Rozpustnost** uhlovodíků ve vodě klesá s rostoucím molárním objemem uhlovodíkových homologů. Snižující se teplota ovlivňuje rozpustnost aromatických uhlovodíků podle očekávání negativně.

**Těkání** uhlovodíků z vody, závisí na jejich tenzi par. Čím vyšší je tenze par, tím uhlovodíky snáze těkají. V úvahu přichází především těkání rozpuštěných uhlovodíků. Těkání emulgovaných a sorbovaných uhlovodíků na suspendovaných látkách a z povrchových filmů přichází v úvahu zejména při ropných haváriích. Rychlost tohoto procesu závisí především na teplotě, na turbulenci vody v toku, na rychlosti větru a na tloušťce filmu na hladině vody. Těkání uhlovodíků je jednou z příčin, proč se postupně mění poměrné zastoupení uhlovodíků ve vodě ve prospěch látek s nižší tenzí par [1].

**Tab. 2.3:** Příklady prahových koncentrací pachu (A), prahových koncentrací chuti (B) a doporučených limitů pro pitnou vodu za zdravotního hlediska (US EPA) (C). Koncentrace jsou  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$

Uhlovodík	A (40 °C)	B (25 °C)	C
benzen	190	–	10
ethylbenzen	150	390	700
isopropylbenzen	10	60	–
naftalen	2,5	25	20
styren	37	94	100
toluen	960	960	1000

Uhlovodíky ve vodách zhoršují jejich organoleptické vlastnosti. Projevují se především pachem. Prahová koncentrace pachu je nižší než prahová koncentrace chuti. Prahové koncentrace pachu se u různých ropných látek (benzinů, petroleje, nafty a olejů) pohybují v rozmezí asi od  $0,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  až do  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Koncentrační rozmezí pro prahové koncentrace pachu a chuti se mohou pohybovat v širokém rozmezí. Protože průměrná škodlivost různých uhlovodíků pro vodní organismy se často projevuje teprve ve vyšších koncentracích, než odpovídá prahovým koncentracím pachu, přihlíží se při určování limitních koncentrací uhlovodíků ve vodách také k jejich organoleptickým vlastnostem. Některé příklady jsou uvedeny v tab. 2.3.

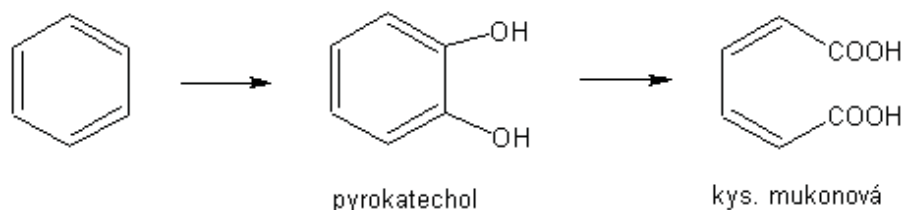
Pokud se týká *jakosti pitné vody*, pak ČSN 75 7111 uvádí u fluoranthenu indikační hodnotu  $40 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ , jejíž překročení je důvodem k rozhodnutí o stanovení benzo[a]pyrenu, popř. dalších karcinogenních PAU. V balené stolní a kojenecké vodě (vyhl. MZd č. 292/1977 a č. 241/1998) nesmějí být následující aromatické uhlovodíky přítomny v detekovaném množství (uvedeny jsou limity detekce v  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ): benzen 5,0, toluen 50, xyleny 100, ethylbenzen 20, styren 10, benzo[a]pyren 0,01 [1].

Pokud se týká požadavků na *jakost povrchových vod*, pak nař. vl. č. 82/1999 Sb. uvádí ve vodárenských tocích hodnotu pro benzo[a]pyren  $10 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ , pro ostatní povrchové vody hodnotu  $50 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ , pro benzen hodnoty  $0,01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , resp.  $0,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Pro sumární kon-

centraci PAU  $200 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$  (vodárenské toky) a  $500 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$  (ostatní povrchové vody). Dále jsou uvedeny hodnoty pro toluen, naftalen a xyleny.

Uhlovodíky mohou podléhat ve vodách **fotochemickým, chemickým a biochemickým transformacím**, které na jedné straně vedou k jejich postupnému odstraňování z prostředí, avšak na straně druhé se mohou tvořit poměrně stabilní meziprodukty tohoto rozkladu, které mohou být i toxičtější než původní uhlovodíky (např. peroxidy). Fotolýze podléhají především aromatické uhlovodíky absorbující záření v UV-oblasti. V povrchových vodách je fotochemický rozklad aromatických uhlovodíků indukován  $\text{Fe}^{III}$ , umožňují tím i jeho následnou oxidaci rozpuštěným kyslíkem. [1]

Přeměny aromatických uhlovodíků v přítomnosti vody a kyslíku jsou relativně pomalé a probíhají následujícím mechanismem:



**Obr. 2.3: Přeměny aromátů**

Při dalším štěpení vzniká kyselina jantarová a acetylkoenzym A. [2]

## 2.2.4 Organická rozpouštědla ve vodách

V odpadních vodách z průmyslové výroby se mohou objevit další těkavá rozpouštědla. Tyto problémy se objevují zvláště ve farmaceutickém a petrochemickém průmyslu. Mezi používaná rozpouštědla patří např. aceton, 2-butanon, 3-pentaon, acetonitril, akrylonitril, akrolein a 1,4-dioxan. Z nich akrylonitril a 1,4-dioxan jsou potenciálními karcinogeny a ostatní jsou vesměs toxické. Tím vzniká nutnost stanovovat tato rozpouštědla na koncentrační úrovni asi  $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  odpadní vody. Ve vodách bývá zpravidla směs několika rozpouštědel, proto obvyklým pracovním schématem bývá: zkoncentrování - separace - stanovení. Jednou z možností jak zkoncentrovat těkavá rozpouštědla je destilační zkoncentrování. [2]

## 2.3 Izolace těkavých organických látek

K izolaci těkavých organických látek z vod a k jejich zkoncentrování je možné použít následující postupy:

1. Extrakce plynem se zkoncentrováním na tuhém sorbentu (tzv. dynamický head-space nebo „purge and trap“),
2. extrakce rozpouštědlem nemísitelným s vodou,

3. extrakce tuhým sorbentem,
4. destilační zkoncentrování,
5. vytvoření rovnováhy mezi kapalným vzorkem a plynnou fází v uzavřeném prostoru s následnou analýzou plynné fáze (tzv. statický head space) [2].

### 2.3.1 Extrakce plynem se zkoncentrováním na tuhém sorbentu

Extrakce plynem, nebo také dynamický head-space, může být realizován celkem ve třech variantách.

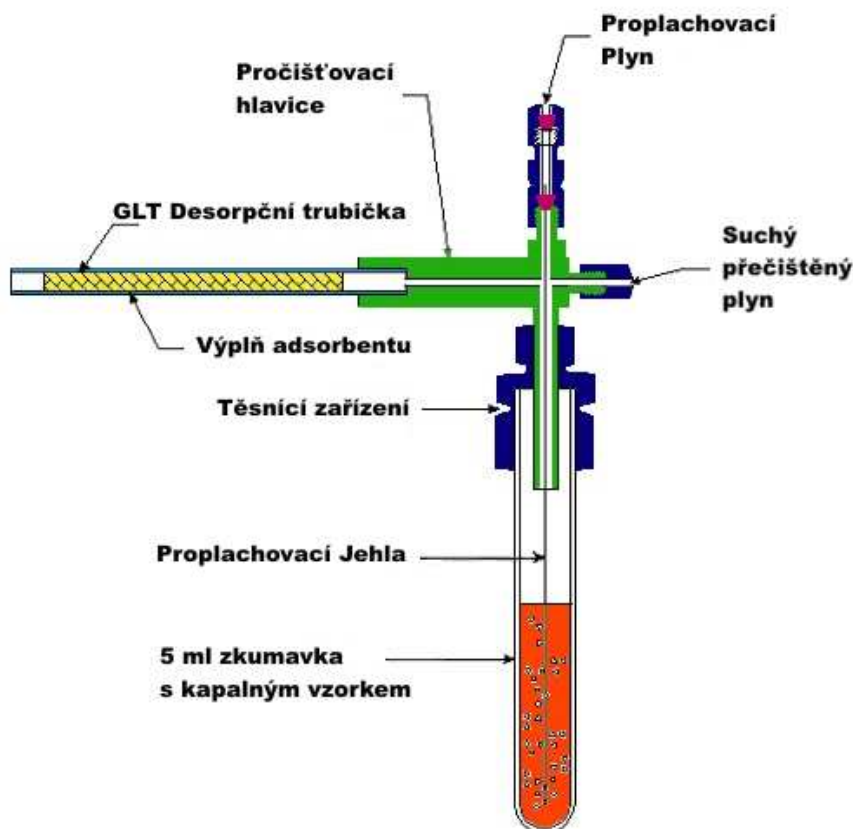
Nejjednodušší a patrně nejpoužívanější je **otevřený systém**. Vodný vzorek se umístí do malé promývací nádoby. Vzorkem se nechávají procházet bublinky inertního plynu, které s sebou unášejí analyt. Při průchodu sorpční kolonou je analyt zachycen a plyn odchází do atmosféry.

Extrakce plynem (obr. 2.4) v **uzavřeném systému** pracuje obdobně. Má všechny prvky jako předcházející varianta s tím rozdílem, že extrahující plyn neodchází do atmosféry, ale je čerpadlem cirkulován zpět do promývací nádoby. Uzavřený systém může pracovat buď jako *konzervační*, kdy všechen analyt je z vody vytěsněn a zachycen na sorpční koloně, nebo jako *rovnovážný* (equilibrační), kdy dojde k průniku ze sorpční kolony i u analytu s největší retencí a v cirkulačním obvodu se ustaví rovnováhy obou systémů.

Předností otevřeného systému je jeho technická nenáročnost a poměrně vysoký stupeň obohacení. Nevýhodou je nebezpečí zkoncentrování nečistot z použitého plynu. Uzavřený systém je náročnější na instrumentaci (cirkulační čerpadlo, dokonalá těsnost), ale umožňuje nejvyšší stupeň obohacení s minimální možností kontaminace, protože systém nekomunikuje s okolím. [2]

Analyt zachycený na sorpční koloně můžeme desorbovat buď zahřátím, nebo promytím kolony vhodným rozpouštědlem. V případě tepelné desorbce bývá kolona přímo spojená s plynovým chromatografem (tzv. „on-line“ zapojení). Tomuto zapojení se dává přednost, protože umožňuje dávkovat do plynového chromatografu analyt z celého objemu vzorku. Desorpce rozpouštědlem se někdy používá u extrakce plynem v uzavřeném systému pracujícím konzervačním způsobem. Pro desorpci je třeba volit takové rozpouštědlo, aby analyt byl eluován v nejmenším možném objemu. Pokud bychom na sorpční kolonu pohlíželi jako na kolonu chromatografickou, požadujeme z hlediska desorbce, aby kapacitní poměr analytu a mrtvý objem kolonky byly co nejmenší, zatímco počet pater by měl být co nejvyšší. Rozpouštědlo není možno zpravidla odpařovat, protože riziko ztrát analytu by bylo příliš velké, a tak se do chromatografu nastříkuje pouze alikvotní podíl. Tím se mez detekce posouvá k vyšším hodnotám v porovnání s tepelnou desorpcí.

Uvolněný analyt se zachytí na sorpční koloně. Ta může být naplněna buď adsorbentem (silikagel, aktivní uhlí), nebo kapalnou stacionární fází (běžné stacionární fáze pro plynovou chromatografii) nanesenou na nosiči, případně polymerním sorbentem. Podle



Obr. 2.4: Extrakce těkavých kontaminantů plynem (technika Purge and trap) [12]

typu náplně dochází na koloně k adsorbci nebo absorpci. Jednotlivé typy náplní se někdy kombinují. Kolony většinou pracují při teplotě místnosti, ale v případě záchytu velmi těkavých látek nebo látek se širokým rozmezím bodů varu mohou pracovat za kryogenických podmínek. Náplň kolony nebo její kombinace se volí podle toho jaké látky mají být na koloně zachyceny. [2]

### 2.3.2 Extrakce rozpouštědlem

Dle normy ČSN EN ISO 10301 [5] lze stanovovat vysoce těkavé halogenované uhlovodíky extrakcí kapalina/kapalina. Extrakce se provádí pomocí vhodného organického rozpouštědla. Před použitím extrakčního rozpouštědla pro samotnou extrakci, se vzorek této látky analyzuje plynovým chromatografem s detektorem elektronového záchytu k ověření nepřítomnosti látek vyvolávající rušivé píky na chromatogramu. Jestliže stanovovaná sloučenina eluuje ve stejné oblasti jako extrakční činidlo, použijí se jiná rozpouštědla. [5]

K posouzení snadné či obtížné extrahovatelnosti určitého kontaminantu z vody do organické fáze může posloužit informace o rozpustnosti této látky ve vodě  $S_{aq}$  nebo s ní úzce spjatý distribuční koeficient oktanol-voda  $K_{OW}$ , který je obvykle uváděn v logaritickém tvaru  $\log K_{OW}$ . Tento parametr se používá proto, že 1-oktanol se ukázal jako vhodný model pro distribuční vlastnosti lipofilní matrice ve vodném prostředí. Bezrozměrný ko-

eficient  $K_{OW}$  je dán poměrem rovnovážných látkových koncentrací analytu v 1-oktanolu  $c_{okt}$  a ve vodě  $c_{aq}$  při konstantní teplotě nejčastěji při 25 °C:

$$K_{OW} = \frac{c_{okt}}{c_{aq}} \quad (2.1)$$

a Gibbsova energie spojená s přenosem 1 molu analytu z oktanolu do vody

$$\Delta G_{O \rightarrow W} = RT \ln K_{OW} \quad (2.2)$$

Pro 25 °C dostáváme vztah:

$$\log K_{OW} = 0,175 \cdot \Delta G_{O \rightarrow W} \quad (2.3)$$

Gibbsovu energii  $\Delta G_{O \rightarrow W}$  je možno rozložit na součet dvou příspěvků,  $\Delta G_{o \rightarrow g}$  a  $\Delta G_{g \rightarrow w}$ , tj. Gibbsova energie spojená s přenosem analytu z oktanolu do plynné fáze a z plynné fáze do vody.

Podle technického provedení může být extrakce buď statická (v děličce apod.) nebo dynamická, např. protiproudá extrakce. Výsledky statické extrakce jsou však prakticky shodné s výsledky v průtokovém uspořádání, proto se dává přednost instrumentálně nenáročnému statickému uspořádání. [2]

### Destilační zkoncentrování

Tato operace se používá při stanovování organických rozpouštědel ve vodách. Rozpouštědla jsou zde zastoupena zpravidla ve směsích, proto je nutné vzorek nejdříve zkoncentrovat, poté separovat a stanovovat. Aparatura pro tuto operaci se skládá z varné baňky, deflegmátoru a dlouhého chladiče. Jediným zvláštním prvkem je komůrka ve spodní části chladiče, která umožňuje zadržet malou část destilátu. Zadržované množství představuje asi 1/300 objemu vzorku ve varné baňce. Komůrka je zvenčí přístupná přes septum.

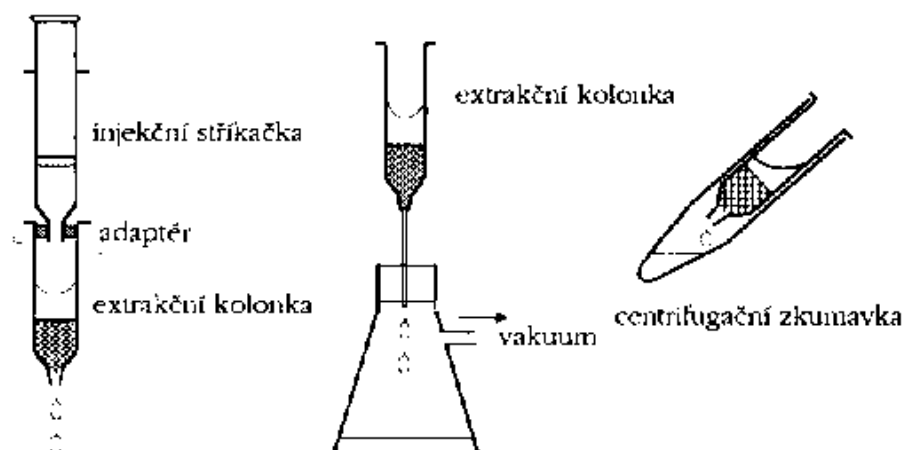
Do varné baňky se umístí 350 ml vodného vzorku a uvede do varu. Všechny destilát se vrací zpět a tak, asi během 15 min, se v koloně ustaví rovnováha mezi kapalnou a plynnou fází. Přitom dojde k obohacení plynné fáze o těkavější složku, popřípadě o složku, která s vodou poskytuje azeotrop s minimem bodu varu. Při objemu komůrky cca. 1,3 ml a výtěžku 70-80 % je stupeň zkoncentrování vyšší než 200. Dobu potřebnou pro ustavení rovnováhy a výtěžek je nutné stanovit experimentálně. Vzorek, který se odebere mikrostříkačkou z komůrky, je analyzován plynovou chromatografií buď s plamenovým ionizačním nebo hmotnostně spektrometrickým detektorem. Podle toho se mez detekce pohybuje od 10 až po 1  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . [2]

### 2.3.3 Extrakce tuhým sorbentem (SPE)

Metoda známá v anglické literatuře pod názvem „solid phase extraction“, je založena na rovnovážné distribuci analytu mezi vodou a tuhým fází, přičemž rovnováha je posunuta ve prospěch tuhé fáze. Používá se v případech, kdy koncentrace polutantů ve vodě je

nižší, než je mez stanovitelnosti použité analytické metody nebo, když vysoká koncentrace interferujících látek znemožňuje přímé stanovení. Extrakce tuhým sorbentem je určitou alternativou k extrakci kapalina-kapalina, která někdy přináší problémy s tvorbou emulzí, s odpařováním velkých objemů rozpouštědel, s odpady toxických rozpouštědel apod.

Princip extrakce tuhým sorbentem spočívá v tom, že roztok analytu ve vodě se přivede do kontaktu s tuhým sorbentem, který silně sorbuje analyt, ale v míře co nejmenší od ostatních složek roztoku. Po oddělení sorbentu od roztoku je zachycený analyt uvolněn buď zahřátím nebo elucí rozpouštědlem. K extrakci tuhým sorbentem lze použít jak uspořádání *statické*, tj. míchání roztoku analytu se sorbentem a odfiltrování sorbentu, tak i uspořádání *dynamické*. V tomto provedení protéká roztok vzorku přes sorpční kolonku malých rozměrů, která obsahuje řádově miligramy až gramy vhodného sorbentu. Průtok je umožněn buď gravitací, nebo *pozitivním tlakem* (čerpádem, injekční stříkačkou), nebo *negativním tlakem* (připojeným vakuem) jak ukazuje obr. 2.3.3. V současných aplikacích převládá dynamické uspořádání. [2]

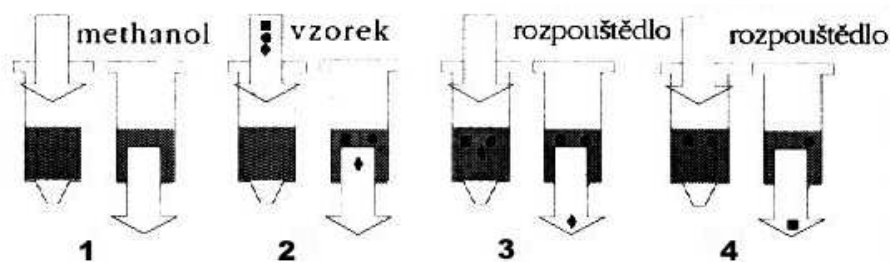


Obr. 2.5: Různé způsoby průchodu kapaliny extrakční kolonkou [3]

Hlavním prvkem v dynamickém uspořádání je sorpční kolonka, která má obvykle délku 10-20 mm, vnitřní průměr 2-4,6 mm a je naplněna sorbentem o velikosti částic 20-50  $\mu\text{m}$ . Proces extrakce se skládá z těchto kroků:

1. Aktivace sorbentu – solvatace fáze vázané na povrchu sorbentu, aktivace měniče iontů apod., s následným vymytím přebytku činidla. U některých sorbentů je tento krok vynechán,
2. aplikace vzorku – analyt je z větší části oddělen od matrice vzorku,
3. promytí sorbentu – slouží k odstranění interferujících složek bez toho, že by byl eluován analyt. U málo zadržovaného analytu může být tento krok vynechán a sorpční kolonka se zbaví zbytku vody profoukáním plynem,
4. desorpce koncentrovaného analytu – desorpční techniky, viz. dále,

5. regenerace sorbentu – v řadě případů se nevyžaduje; kolonky jsou často konstruovány pro jedno použití.



Obr. 2.6: Jednotlivé kroky při extrakci [3]

Voda smáčí silikagel velmi dobře. Navázáním vrstvy hydrofóbního materiálu se však stává silikagel vodoodpudivým

Na místo sorpční kolonky je možné použít extrakční disk, což je síťka z teflonu nebo ze skelných vláken, ve které je zakotveno cca. 90 % hm. silikagelu modifikovaného skupinami C<sup>18</sup> nebo C<sup>8</sup>, popř. hydrofóbního kopolymeru. Průměry extrakčních disků se pohybují od 4 mm, pro vzorek o objemu asi 1 ml, do 90 mm. Tloušťka disků je 0,5 mm a jejich předností je rychlost, s jakou je možno vzorek perkolovat. [3]

### 2.3.4 Statický head space

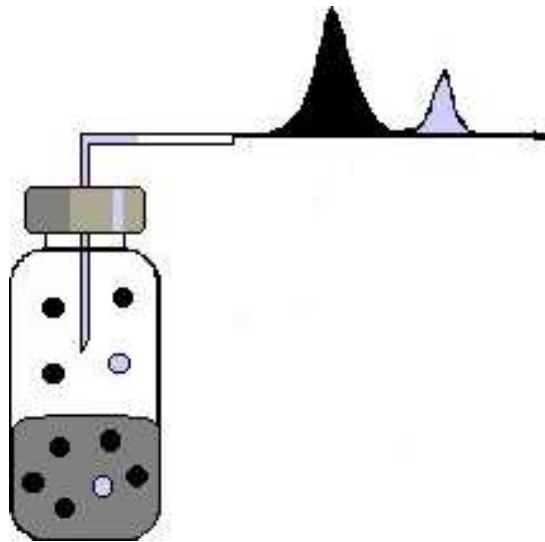
Základním požadavkem této metody je dosažení rovnováhy mezi analyzovaným vzorkem a plynnou fází v uzavřeném systému. Do vialky o objemu 20ml uzavřené pryžovým septem, které má na vnitřní straně zátky teflonovou fólií, se umístí 10 ml vzorku vody a vialka se nechá temperovat v termostatu po určitou dobu. Teplota temperace závisí na bodu varu analytu. Zpravidla platí, že čím je bod varu vyšší, tím vyšší bude teplota temperace. U vzorků vody se zřídka temperuje na teplotu vyšší než 80 °C. Doba temperace má být taková, aby systém dosáhl rovnováhy. Tuto dobu je třeba stanovit experimentálně, ale nebývá delší než 60 minut. Dosažení rovnováhy se někdy napomáhá třepáním vialky. Po ustanovení rovnováhy se odebere plynotěsnou injekční stříkačkou určitý objem (běžně 1-2 ml) plynné fáze a analyzuje se plynovou chromatografií. Často se injekční stříkačka temperuje na stejnou teplotu jako vzorek. [2]

Pro zvýšení účinnosti metody se injektace vzorku uskutečňuje i pomocí tzv. SPME vláken (viz. dále). Schéma zařízení pro dávkování statickým head-space s použitím SPME vlákna demonstruje obr. 2.3.4

Pro ustanovení rovnováhy při teplotě  $T$  a tlaku  $p$  se analyt  $i$  rozdělí mezi fází kapalnou (L) a plynnou (G):

$$m_i = (m_i)_G + (m_i)_L \quad (2.4)$$





Obr. 2.7: Schéma head-space techniky [14]

kde  $(m_i)_G$  a  $(m_i)_L$  jsou hmotnostní složky  $i$  v odpovídajících fázích. Zavedeme-li analogii s extrakcí, pojem distribuční poměr koncentrační  $D_{c,i}$ , můžeme psát:

$$D_{c,i} = \frac{(\rho_i)_L}{(\rho_i)_G} = \frac{(m_i)_L}{V_L(\rho_i)_G} \quad (2.5)$$

kde  $(\rho_i)_G$  a  $(\rho_i)_L$  jsou hmotnostní koncentrace v příslušných fázích. Úpravou rovnic (2.4) a (2.5) dostáváme vztah pro celkovou hmotnost složky  $i$  v uzavřeném systému:

$$m_i = (m_i)_G + D_{c,i}(\rho_i)_G V_L \quad (2.6)$$

$$m_i = (\rho_i)_G (V_G + D_{c,i} V_L) \quad (2.7)$$

Rovnice (2.7) udává, že můžeme zjistit celkový obsah analytu v uzavřeném systému, pokud známe koncentraci analytu v plynné fázi, hodnotu distribučního poměru a objemy obou fází. Zjištění objemů fází a koncentrace analytu v plynné fázi není zpravidla neřešitelné, ale určení distribučního poměru nepřichází při běžných analýzách v úvahu. [2]

### Automatizovaný head space

Automatizovaný statický head-space opakovaně temperuje nádobku nosným plynem na určitý přetlak a následně stlačený plyn uvolňuje přes šesticečný kohout s dávkovací smyčkou. Uvolněný plyn se potom analyzuje, ale je to jen určitá část; další část je vypuštěna do atmosféry. V tomto případě je prakticky nemožné stanovit množství analytu, které odešlo s plynnou fází při prvním odběru a je třeba použít buď metody modelování, nebo metody standardního přídatku. [2]

### 2.3.5 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Mikroextrakce tuhou fází (dále jen SPME), je jednoduchá a účinná sorpčně - desorpční technika zkoncentrování analytu, která nevyžaduje rozpouštědla nebo komplikované aparatury. Principem je expozice malého množství extrakční fáze nadbytkem vzorku. Analyty jsou sorbovány na SPME vlákne dokud není dosaženo rovnováhy. Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdělovacího koeficientu. Metoda je použitelná ve spojení s plynovou i kapalinovou chromatografií. Dává lineární výsledky v širokém koncentračním rozsahu. Volbou vhodného typu vlákna se dosáhne reprodukovatelných výsledků i pro nízké koncentrace analytů. Doporučuje se zachovávat shodné doby vzorkování a další extrakční parametry - hodnotu pH, iontovou sílu apod [11].

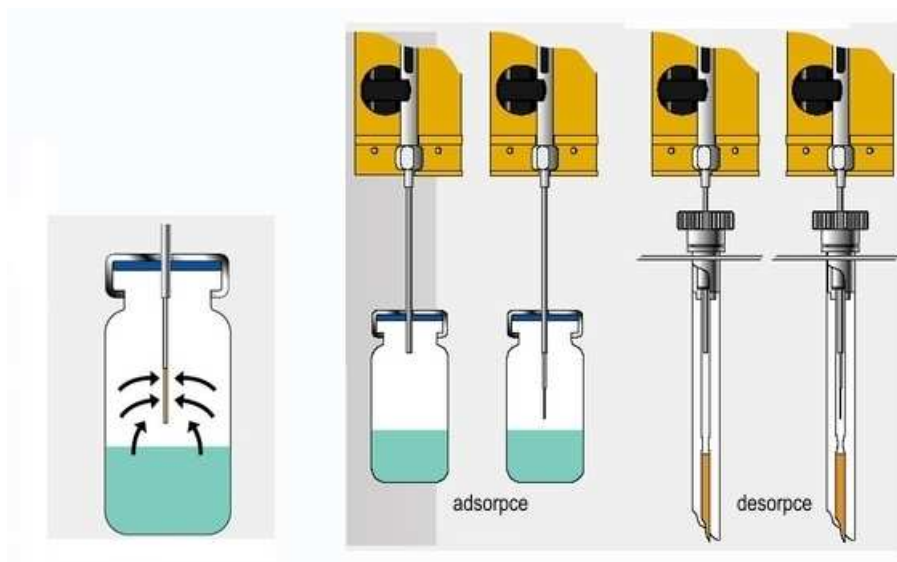
Analýzy organických látek znečišťujících životní prostředí, vonných nebo chuťových složek a příprava mnoha dalších vzorků začíná zkoncentrováním analytu, a to postupy jsou obecně časově náročnými. Sorpčně - desorpční techniku, SPME, vyvinul Janusz Pawliszin na Universitě of Waterloo Ontario, Kanada. Poskytuje lineární výsledky pro široký rozsah koncentrací analytů. Je použitelná v kombinaci s náplňovými i kapilárními kolonami v plynové chromatografii. Lze ji použít ve spojení GC-MS a také ve spojení split/splitless nebo pro přímý nástřik na kolonu. Adaptér SPME-HPLC umožňuje kombinaci této techniky s kapalinovou chromatografií. Tím se rozšířilo použití SPME i do dalších oblastí jako je např. stanovení tenzidů ve vodách nebo farmakologicky aktivních látek v biologických tekutinách.

#### Postup při vzorkování a desorbci

Křemenné vlákno pokryté sorpční vrstvou je spojeno s ocelovým pístem a umístěno v duté ocelové jehle, která vlákno chrání před mechanickým poškozením. Při sorpci analytu je vlákno zataženo dovnitř jehly, která propíchně septum v zátce zkumavky. Posunutím pístu se vlákno vysune do kapalného vzorku, popřípadě do prostoru nad jeho hladinou. Analyt se sorbuje do vrstvy pokrývající vlákno. Po dosažení sorpční rovnováhy (obvykle 2 - 30 minut) se vlákno opět zasune dovnitř jehly a spolu s ní je vytaženo ze zkumavky se vzorkem. Při vzorkování je nejkritičtějším parametrem extrakční čas. Extrakce trvá většinou 15 - 20 minut, ale může být obecně kratší než 30 sekund. Extrakce z prostoru parní fáze je obvykle kratší než v případě, kdy se používá extrakce ponořením do vzorku. Vlastní extrakční čas kromě toho závisí i na molekulových hmotnostech extrahovaných látek a na použitém typu vlákna. Extrakční čas může být obecně kratší v následujících případech:

- analýza molekul s malou MH
- při použití vlákna s tenkou vrstvou polymeru
- při vyšší koncentraci analytů

Při desorbci je jehla zavedena do injektoru plynového chromatografu, kde je analyt tepelně desorbován a nesen na GC kolonu. [11]



Obr. 2.8: Aplikace vzorku pomocí SPME [13]

Při použití adapteru SPME-HPLC se analyt eluuje rozpouštědlem a je nesen na kolonu kapalinového chromatografu.

### Princip mikroextrakce tuhou fází

Na rozdíl od klasických extrakčních metod není analyt extrahován ze vzorku v co nejvyšší koncentraci, ale pouze do dosažení rovnovážného stavu.

Z hlediska fyzikálně chemického je rovnovážný stav SPME techniky závislý na koncentraci analytu ve vzorku a na typu a tloušťce polymeru, který pokrývá křemenné vlákno. Množství sorbovaného analytu závisí také na distribuční konstantě. Doba extrakce je určována analytem s nejvyšší distribuční konstantou. Distribuční konstanta vzrůstá s rostoucí molekulovou hmotností a bodem varu analytu.

Selektivitu extrakčního procesu lze ovlivnit typem polymeru pokrývajícím vlákno. Obecně platí, že těkavé látky vyžadují silnější vrstvu polymeru a slabší vrstva je účinnější pro sorpci středně těkavých analytů. V případě kapalných vzorků je množství analytu adsorbovaného na vlákno při dosažení rovnováhy přímo úměrné množství analytu ve vzorku:

$$n = \frac{K_{fs}V_fC_0V_s}{K_{fs}V_f + V_s} \quad (2.8)$$

kde je:

$n$	množství analytu adsorbovaného na vláknu
$C_0$	počáteční koncentrace analytu ve vzorku
$K_{fs}$	rozdělovací koeficient pro analyt (polymer - vzorek)
$V_f$	objem pokrytí
$V_s$	objem vzorku

Z výše uvedené rovnice vyplývá lineární vztah mezi počáteční koncentrací analytu ve vzorku a množstvím analytu, které se sorbuje vláknem. Materiály používané k pokrytí křemenného vlákna jsou vybírány s ohledem na co nejvyšší hodnoty  $K_{fs}$  což způsobuje vysokou sorpční schopnost vlákna se selektivním efektem. Hodnota  $K_{fs}$  obvykle není dostatečně vysoká, aby se analyt zcela extrahoval z matrice, a proto je SPME metodou rovnovážnou. Jak zároveň vyplývá z rovnice, je-li objem vzorku  $V_s$  dostatečně velký, množství analytu extrahovaného na vlákně nezávisí na objemu vzorku. Proto je SPME vlákno ideální pro odběr vzorků v terénu, ze vzduchu, ponořením do jezera, řeky nebo pramene či studně [20].

Významně se zkracují časy potřebné pro analýzy vzorků. Kombinují se totiž operace vzorkování, extrakce, zkoncentrování a dávkování do jednoho kroku.

Volbou vhodného typu polymeru a jeho tloušťky se dosáhne maximálního výtěžku a významného zlepšení sorpční selektivity. Další optimalizaci je možné provést také přidáním elektrolytu do vzorku, úpravou pH nebo vzorkováním z prostoru headspace. Vliv těchto faktorů je diskutován v následujících kapitolách [11].

## Sorbce analytu

Metoda SPME umožňuje při zachování konstantních podmínek vzorkování dosáhnout vysoké přesnosti a správnosti. Je třeba zajistit především shodnost v délce doby vzorkování, udržovat konstantní velikost vialek, velikost vzorku a při vzorkování s ponořením dodržovat stejnou hloubku ponoru vlákna do vzorku (nastavitelná délka jehly na držáku vlákna). Metody, které využívají ponoru a sorpce z prostoru se liší v kinetice, a proto jsou uvažovány dva doplňující se přístupy. Pro stanovený čas vzorkování bylo zjištěno, že pro analyty, které se vyskytují převážně ve formě kapalné je mnohem citlivější SPME, která používá ponoření do vzorku než head space SPME. Opak platí pro analyty, které jsou přítomny v prostoru head space. Při zvětšování objemu z 200  $\mu\text{l}$  na 3 ml (při konstantním poměru mezi objemem vzorku a head space (1 : 1)) vzrůstá sorpce analytu v obou SPME technikách. Vysoká citlivost techniky head space SPME umožňuje minimalizaci vzorku. Rovnováhy je dosaženo v head space prostoru mnohem rychleji než při ponoření SPME vlákna, protože analyt může difundovat k vláknu rychleji. Metoda head space je ideální pro potlačení interferencí v analýzách a prodlužuje životnost SPME vláken. Jako příklad uveďme analýzu punčové vůně v přítomnosti glycerinu. Head space technika eliminovala pík glycerinu a odhalila další komponenty, které byly v přímém split nástřiku nezřetelné. V plynové chromatografii závisí desorpce analytu z SPME vlákna na bodu varu analytu, tloušťce polymeru a teplotě dávkovače. Pro zaostření pomalu desorbující složky se někdy používá kryogenní chlazení. Dalším způsobem zaostření zóny je použití vstupního lineru, s malým vnitřním průměrem 0,75 mm. Na obrázku B jsou pro srovnání uvedeny odpovídající chromatogramy. V kapalinové chromatografii se používá k uvolnění analytu z vlákna dynamická desorpce a nebo pro pevněji vázané analyty statická desorpce. Techniku SPME lze používat jak pro orientační analytická stanovení, tak s interním standardem pro vysoce přesné a reprodukovatelné kvantitativní analýzy [11].

## Optimalizace SPME

Shodnost výsledků a spolehlivost detekce při nízkých koncentracích je ovlivněna celou řadou faktorů, např. polaritou a tloušťkou vrstvy polymeru na povrchu vlákna, způsobem vzorkování, hodnotou pH, iontovou silou roztoku, teplotou vzorku, mícháním apod. U techniky SPME není nutná ani úplná extrakce analytu ani úplná rovnováha. Důležité ale je, dodržovat shodnou délku doby vzorkování, teplotu vzorku a hloubku ponoru vlákna [11].

Níže je uveden výčet zmíněných faktorů:

- ***Polarita vlákna, porozita a specifický povrch***

Nepolární analyty jsou mnohem účinněji extrahovány vlákny s nepolárním povrchem a naopak. Panuje zde stejná shoda jako při vlastní analýze na chromatografické koloně s tím rozdílem, že množství stacionární fáze je výrazně menší než na chromatografické koloně. Proto malé rozdíly v polaritě stacionární fáze nemusí nutně vést u SPME ke srovnatelné sorpční selektivitě. Účinné jsou přísady sorbentů do polymeru, např. silně polární Carbowax. PEG v divinylbenzenovém polymeru. Docílí se tak zvětšení specifického povrchu a tím se zvýší extrakce malých polárních molekul. Malé póry v Carboxenových<sup>TM</sup> částicích vytvoří účinné uhlíkové molekulové síto pro extrakci malých molekul.

- ***Tloušťka vrstvy***

Silnější vrstva je schopna extrahovat větší množství analytu než vrstva tenká. Proto se vlákno se silnější vrstvou používá pro zachycení těkavějších látek a následnou bezztrátovou desorpci v nástřiku plynového chromatografu. Tenká vrstva naopak zajišťuje rychlou difuzi a uvolnění výše vroucích látek během tepelné desorpce. Silná vrstva účinněji extrahuje výše vroucí složky ze vzorku, ale desorpce je dlouhotrvající proces. Analyt může být přenášen až do další extrakce.

- ***Míchání vzorku***

Míchání vzorku extrakci zlepšuje a zkracuje, obzvláště u molekul s vyšší molekulovou hmotností a s vysokým difuzním koeficientem. Proměnlivé míchání je nežádoucí, protože způsobuje nižší přesnost stanovení. Ultrazvuk zvyšuje adsorpci analytu, ale zároveň vede k zahřívání vzorku. Může pak odpařit vzorek do prostoru head space a zlepšit tento způsob extrakce.

- ***Vliv vysolování a pH***

Těkavé analyty, které jsou schopné odpařování, mohou být extrahovány ponořením vlákna do vzorku nebo vzorkováním v prostoru head space. Netěkavé musí být extrahovány pouze ponořením vlákna. Přidání 25 - 30 % (hmotnostních) chloridu sodného do vzorku nebo úprava pH vzorku před vlastní extrakcí, zvyšuje iontovou sílu roztoku, a tím snižuje rozpustnost analytů. Zvýšením iontové síly roztoku přidávkem soli do vzorků se zvýší účinnost extrakce pro řadu analytů, zvláště látek polárních a těkavých. To platí i pro stopovou analýzu. Zvýšení iontové síly se nedoporučuje pro vysokomolekulární látky, protože je příčinou vzniku interferujících píků. Změna pH také ovlivňuje rozpustnost některých analytů. Kyselá a bazická složka jsou mnohem účinněji extrahovány v kyselém, respektive bazickém prostředí. Vhodnou kombinací vlivu iontové síly a hodnoty pH se zlepší extrakce analytu z prostoru head space. Ustavení rovnováhy je rychlejší v prostoru head space než při ponoření do vzorku proto, že se molekuly pohybují v plynné fázi mnohem rychleji než v kapalině.

- ***Další faktory***

Množství extrahovaného analytu ovlivňuje celá řada dalších faktorů. Při nízkých koncentracích těkavých látek (<50 ppb) změna objemu neovlivní odezvu, protože rovnováha je závislá na koncentraci. Při vyšších koncentracích začínají být změny objemu významné. Množství analytu získaného ze vzorku neodpovídá lineární změně koncentrace, a to u velkých vzorků (>5 ml), které obsahují vyšší koncentrace analytu. Kalibrační křivka je nelineární zvláště u látek s vysokou distribuční konstantou. Lineární závislost platí pouze pro nízké koncentrace. Protože koncentrace analytu obvykle není známá, je lepší zachovávat velikost vzorku mezi 1 a 5 ml a používat stejný objem pro vzorky a kalibrační standard. Při metodě ponoření vlákna do vzorku, se doporučuje minimalizovat head space prostor ve vialce se vzorkem.

Získání shodných výsledků vyžaduje zároveň optimalizaci desorpčních parametrů jednotlivých analytů, tj. teploty nástřiku, hloubky vsunutí vlákna do nástřiku a desorpčního času [11][22].

## **Typy vláken a jejich vlastnosti**

Od roku 1993, kdy byla vlákna poprvé uvedena na trh, vznikala celá řada aplikací a objevily se výhody ale i nevýhody tohoto způsobu přípravy vzorků. Souhrn vláken, které se dnes vyrábějí jsou uvedeny v tab. 2.4. Jedním z omezení je nízká schopnost zachytit malé těkavé molekuly. U těchto látek je totiž rovnováhy dosaženo rychle a distribuční konstanta je nízká. Koncentrace minimálního detekovatelného množství je poměrně vysoká.

Tab. 2.4: Přehled dodávaných SPME vláken

Stacionární fáze	Zkratka stac. fáze	Tloušťka vrstvy	Určeno pro chromatografii	Doporučeno pro analýzu
Polydimethylsiloxan	PDMS	100 $\mu\text{m}$	GC/HPLC	těkavé látky nepolární,
		30 $\mu\text{m}$	GC/HPLC	středně těkavé látky
		7 $\mu\text{m}$	GC/HPLC	slabě polární až nepol.
Polydimethylsiloxan/ divinylbenzen	PDMS/ DVB	65 $\mu\text{m}$	GC	Polární těkavé látky, obecné použití
Polyakrylát	PA	85 $\mu\text{m}$	GC/HPLC	polární, stř. těkavé l.
Carboxen <sup>TM</sup> / polydimethylsiloxan	CAR <sup>TM</sup> / PDMS	75 $\mu\text{m}$	GC	stopové koncentrace
		85 $\mu\text{m}$	GC	těkavých látek
Carbowax <sup>TM</sup> / divinylbenzen	CW <sup>TM</sup> / DVB	65 $\mu\text{m}$	GC	polární látky
		70 $\mu\text{m}$	GC	
Divinylbenzen/ Carboxen <sup>TM</sup> / polydimethylsiloxan	DVB/ CAR <sup>TM</sup> / PDMS	30 $\mu\text{m}$	GC	těkavé a středně
		50 $\mu\text{m}$	GC	těkavé látky C3-C20

Bylo prokázáno, že pro zachycení většího množství těchto malých analytů je důležitá jednak tloušťka vrstvy a jednak její porozita. Byl sledován i vliv polarita vrstvy. Podobně, jako se dosud nepodařilo vytvořit univerzální kolonu, na které by se rozdělily všechny látky, nepodařilo se vytvořit univerzální extrakční vrstvu na křemenném vlákně.

Pro dosažení reprodukovatelných výsledků je důležitá volba vhodného vlákna, která záleží především na vlastnostech analytů. Mezi faktory, které mají největší vliv na extrakční proces patří molekulová hmotnost a charakter molekuly, polarita a přítomnost funkčních skupin, očekávaný detekční limit a lineární rozsah. Volba vlákna vychází především z jeho polarita a očekávaného extrakčního mechanismu.

Nepokryté křemenné vlákno se chová jako adsorbent. Je dodáváno pouze na zakázku, protože nepokryté vlákno je křehké. Všechny typy vrstev jsou dodávány i na novém typu křemenných vláken StableFlex. Plast v křemenném vlákně zlepšuje jeho mechanické vlastnosti. Vlákno není tak křehké. Zlepšuje se i vazba se stacionární fází na takto upravené vlákno. Extrakční vlastnosti vláken StableFlex jsou také odlišné od původních vláken.

K mikroextrakci na tuhé fázi dochází na rozhraní mezi SPME polymerní fází a matricí vzorku. Uplatňují se při ní rozdílné mechanismy, v závislosti na použité polymerní fázi SPME vlákna. Pro komerčně vyráběné materiály, používané jako polymerní fáze SPME, jsou charakteristické dva hlavní mechanismy extrakce - absorpční a adsorpční [11].

Přehled používaných materiálů pro polymerní fáze udává tab. 2.5 spolu s typy mechanismů extrakce. Při extrakce molekuly analytu difundují k povrchu vlákna a přilnou k němu. Zda budou migrovat do celého objemu vlákna nebo setrvají na povrchu, závisí na velikosti difúzního koeficientu v materiálu pokrývajícím vlákno (viz. obr. 2.9).

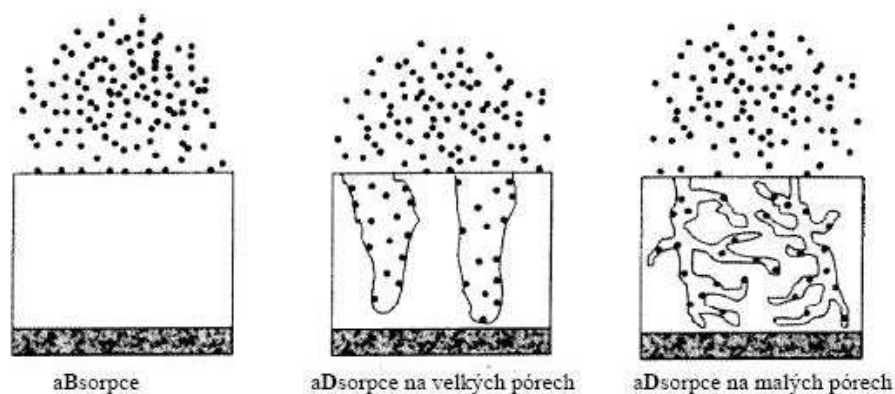
Difúzní koeficienty organických molekul v polymerních materiálech vláken na bázi polydimetylsiloxanu jsou blízké těm v organických rozpouštědlech. Difúze molekul v PDMS je tedy relativně rychlá a tento materiál extrahuje analyty absorpčním mechanismem. Na druhé straně difúzní koeficienty organických molekul v divinylbenzenu (DVB), Carbowaxu, Carboxenu jsou natolik nízké, že po dobu SPME analýzy takřka všechny molekuly zůstanou na povrchu polymeru.

Kdyby organické molekuly analytu zůstaly na povrchu dlouhou dobu (dny a týdny) mohly by difundovat do materiálu (ale jen na velmi krátké vzdálenosti). Pro tyto polymery je příznačné, že po opakovaných sorpcích a desorpcích vzniká obtížně odstranitelný perzistentní zbytek. Pro všechny praktické účely je však adsorpce jediným extrakčním mechanismem pro jmenované polymery.

Pro popis teorie extrakce vláken s Carboxenovou polymerní fází dodnes nebyla vytvořena spolehlivá teorie. Tento materiál je typický kombinací mechanismů adsorpce a kapilární kondenzace zvyšující jeho extrakční kapacitu, avšak komplikující teoretický popis děje. Proto jsou děje probíhající na Carboxenové polymerní fázi prozatím popisovány adsorpční teorií platnou pro DVB a Carbowax.[9]

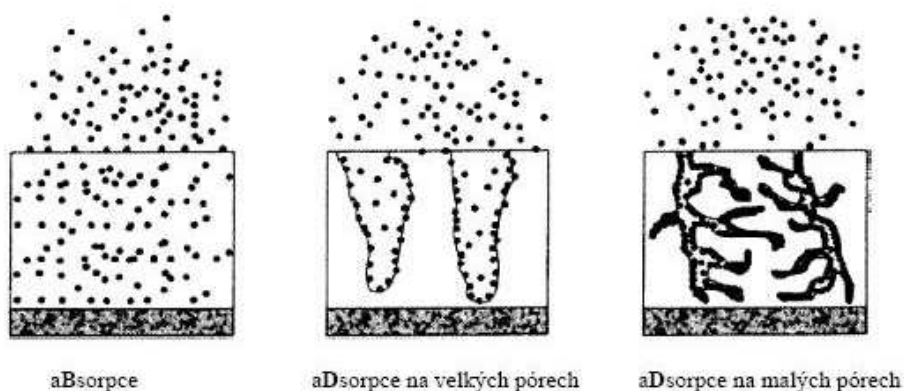
**Tab. 2.5: Přehled mechanismů extrakce u jednotlivých typů SPME vláken**

Stacionární fáze	tloušťka vrstvy	mechanismus extrakce
PDMS	100 $\mu\text{m}$ 30 $\mu\text{m}$ 7 $\mu\text{m}$	absorpční absorpční absorpční
PDMS/DVB	60 $\mu\text{m}$ 65 $\mu\text{m}$ Stableflex	adsorpční adsorpční
PA	85 $\mu\text{m}$	absorpční
Carboxen/PDMS	75 $\mu\text{m}$ 85 $\mu\text{m}$ Stableflex	adsorpční adsorpční
Carbowax/DVB	65 $\mu\text{m}$ 70 $\mu\text{m}$ Stableflex	adsorpční adsorpční



**Obr. 2.9: Schéma extrakčních mechanismů - počátek sorpce [11]**





Obr. 2.10: Schéma extrakčních mechanismů - rovnovážný stav [11]

Pro přípravu vláken jsou používány stacionární fáze, které lze rozdělit do dvou skupin:

1. *homogenní čisté polymery* – aB sorbenty,
2. *porézní částice suspendované v polymeru* – aD sorbenty.

### Vrstvy homogenních polymerů

V současné nabídce jsou vlákna se dvěma typy homogenních polymerů: PDMS a PA. Vrstva PDMS se dodává ve třech tloušťkách filmu  $7\ \mu\text{m}$ ,  $30\ \mu\text{m}$  a  $100\ \mu\text{m}$ . Vrstva je na vláknu buď nanesená – nevázaná, a nebo je ve formě chemicky vázané. Nevázané fáze jsou stabilní v organických rozpouštědlech mísitelných s vodou, ale i v nich mohou slabě bobtnat. Nikdy se nesmí čistit nepolárními organickými rozpouštědly. Vázané fáze jsou stabilní ve všech organických rozpouštědlech. Zesít'ované fáze jsou stabilní v organických rozpouštědlech mísitelných s vodou, kde mohou slabě bobtnat. Vázané fáze jsou termálně stabilnější, a to až do teploty  $320\ ^\circ\text{C}$ , ve srovnání s teplotou  $270\ ^\circ\text{C}$ , která jsou doporučována jako maximální pro nevázané vrstvy.

Dalším používaným polymerem je PA dodávaný v  $85\ \mu\text{m}$  vrstvě. Tato vlákna patří mezi vysoce polární s částečně zesít'ovanou fází, která jsou určena pro extrakci polárních analytů z vodných vzorků.

Na vláknech, která se chovají jako absorbenty množství zachyceného analytu závisí na tloušťce vrstvy. Tato vlákna mají obecně větší extrakční kapacitu. Schopnost vlákna zadržovat a uvolňovat analyt závisí v první řadě na tloušťce pokrytí a na velikosti molekuly analytu. Jednotlivé analyty jsou ve stejných koncentracích, podmínky odběru i analýzy jsou u jednotlivých vláken zachovány. Polarita vlákna může ovlivnit sorpci, ale rozhodující úlohu hraje tloušťka vrstvy. Nedochozí ke kompetitivní sorpci mezi analyty. Silnější vrstva má vyšší sorpční kapacitu.

Vlákno se silnější vrstvou se používá pro zachycení těkavějších látek a následnou úplnou desorpci v nástřiku plynového chromatografu. Tenká vrstva naopak zajišťuje rychlou

difúzi a uvolnění výše vroucích látek během tepelné desorpce. Silná vrstva účinněji extrahuje výše vroucí složky ze vzorku, ale desorpce je dlouhotrvající proces. Analyt může být přenášen až do další extrakce.

**Tab. 2.6: Fyzikálně chemické vlastnosti SPME vláken**

Stacionární fáze	Tloušťka	Typ fáze	pH	Teplota (°C)			akt. (h)
				max.	pracovní	aktivace	
PDMS	100 $\mu\text{m}$	nevázaná	2-10	280	200-280	250	0,5
	30 $\mu\text{m}$	nevázaná	2-11	280	200-270	250	0,5
	7 $\mu\text{m}$	vázaná	2-11	340	220-320	320	1
PDMS/DVB	65 $\mu\text{m}$	vázaná	2-11	270	200-270	250	0,5
CAR <sup>TM</sup> /PDMS	75 $\mu\text{m}$	vázaná	2-11	320	250-310	300	1-2
PA	85 $\mu\text{m}$	vázaná	2-11	320	220 - 310	300	2
CW <sup>®</sup> /DVB	65 $\mu\text{m}$	vázaná	2-9	260	200-250	220	0,5
DVB/CAR <sup>TM</sup> /PDMS	50/30 $\mu\text{m}$	vázaná	2-11	270	230-270	270	2-4

### Porézní částice suspendované v polymeru

Tento typ vláken je pokryt vrstvou, která obsahuje suspendované porézní částice v částečně zesíťované polymerní fázi. Tato vlákna mají nižší mechanickou stabilitu než vlákna s homogenní polymerní fází, ale vyšší selektivitu. Vlákna, která se chovají jako adsorbent obsahují buď DVB a/nebo CAR<sup>TM</sup>. DVB může být suspendován v nepolárním PDMS nebo v mírně polárním CW<sup>®</sup>. CAR<sup>TM</sup> se dodává suspendován v PDMS. Suspenze v CW<sup>®</sup> se neosvědčila, protože má špatnou výtěžnost. Poslední uvedené vlákno je kombinací DVB-PDMS přes vrstvu CAR<sup>TM</sup>-PDMS

Na základě experimentů s vlákny s různými porézními materiály byly odvozeny následující závěry:

1. S rostoucí porozitou částic roste i celková kapacita vlákna,
2. s rostoucí porozitou částic roste i schopnost vrstvy zadržovat analyty,
3. selektivita vlákna roste se zvětšováním velikosti pórů.

Tato vlákna, která se chovají jako adsorbenty, zachycují analyty do pórů a výtěžnost závisí na velikosti povrchu. Analyty jsou zadržovány na základě fyzikálních interakcí. Vlákna s tímto typem stacionární fáze mají omezenou kapacitu. Dochází na nich k nežádoucí kompetitivní sorpci.

### *Polydimetylsiloxan/divinylbenzen kopolymer (PDMS/DVB)*

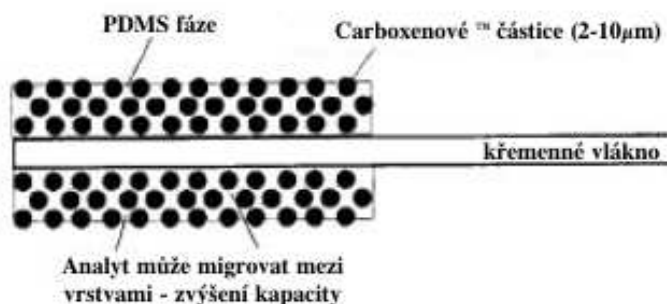
Vlákna s DVB suspendovaným v PDMS se prodávají od roku 1996. DVB obsahuje hlavně velké a střední póry. Vlákna s touto porozitou zachycují pevně analyty s uhlíkovým řetězcem C6 – C15. Jsou vhodné pro stopové analýzy těchto látek. Pevné částice DVB jsou suspendovány v PDMS nebo CW. Přítomnost DVB částic v PDMS zlepšuje sorpci malých analytů, která je výrazně lepší než na samotném PDMS. Tato kombinace vykazuje také zlepšení afinity pro polární analyty. Zlepšila se extrakční selektivita pro aminy a alkoholy. Jednotlivé analyty jsou ve stejných koncentracích, podmínky odběru i analýzy jsou u jednotlivých vláken zachovány [21].

### *Carbowax/divinylbenzen kopolymer (CW/DVB)*

V porovnání s předchozím vláknem vznikne suspenzí DVB v CW vlákno polárnější. Toto vlákno bylo připraveno pro studie polarit a vlivu polarit polymeru smíšených fází na extrakční účinnost při extrakci polárních analytů. Při těchto extrakcích se musí zvýšit polarita vrstvy na vlákně, tak aby se zvýšila rovnováha ve prospěch vrstvy na vlákně. Nevýhodou CW je to, že má sklon bobtnat a rozpouštět se částečně ve vodě [21].

### *Carboxen/ Polydimethylsiloxane (CAR<sup>TM</sup>/PDMS)*

Vlákno bylo uvedeno na trh v roce 1997. CAR<sup>TM</sup> se suspenduje do PDMS. Velikost pórů následně určuje, které analyty budou zachyceny na porézních částicích SPME vláken. Uvádí se, že velikost pórů by měla být 2 x větší než molekula analytu, která má být extrahována. CAR<sup>TM</sup> je porézní syntetický materiál, který je připraven tak, aby byly rovnoměrně zastoupeny póry všech velikostí. Částice jsou syntetizovány ve velikosti 2 - 10  $\mu\text{m}$ .



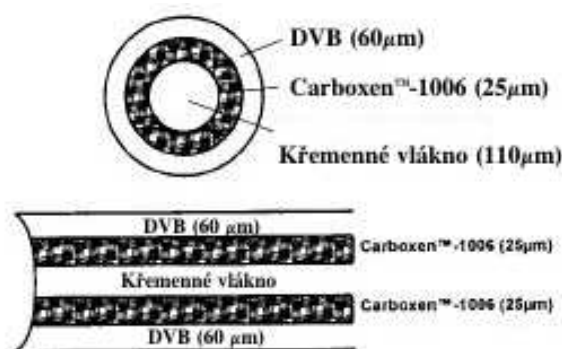
**Obr. 2.11: Vlákno CAR<sup>TM</sup>/PDMS**

Několikanásobná vrstva CAR<sup>TM</sup> částic v PDMS vázaná na křemenné vlákno výrazně zvyšuje sorpční kapacitu vlákna. Tvar pórů v uhlíkových částicích také výrazně ovlivňuje sorpční a desorpční aktivitu. Póry v syntetizovaných carboxenových částicích mají na rozdíl od jiných uhlíkových materiálů jednotný vzhled. Póry prostupují kompletně celé

částice. Uvedené vlákno je vhodné pro extrakci molekul s uhlíkovým řetězcem v rozsahu C2 – C12. Pro větší molekuly C > 12 se uvedené vlákno nedoporučuje, protože tyto molekuly jsou silně zachyceny a jejich desorpce je obtížná. Jednotlivé analyty jsou ve stejných koncentracích; podmínky odběru i analýzy jsou u jednotlivých vláken zachovány [21].

*Polydimetylsiloxan/ divinylbenzen kopolymer - Carboxen/ Polydimethylsiloxane (PDMS/DVB-CAR<sup>TM</sup>/PDMS)*

Příprava univerzálního vlákna vycházela z vlastností obou porézních materiálů DVB a CAR<sup>TM</sup>. Bylo vytvořeno vlákno s dvouvrstevným pokrytím (obr. 2.12). Vrstva se slabším adsorbentem, v tomto případě DVB, je nanášena na silnější adsorbent s CAR<sup>TM</sup>. Dle předpokladů měl CAR<sup>TM</sup> zadržet analyty, které prošly DVB vrstvou. Objem DVB vrstvy je stejný jako u jednovrstevného vlákna, objem CAR<sup>TM</sup> vrstvy je poloviční [21].



**Obr. 2.12:** Schema kombi. SPME vlákna DVB-PDMS přes vrstvu CAR<sup>TM</sup>-PDMS

Na výsledcích extrakce uhlovodíků s rostoucím počtem uhlíků v řetězci jsou patrné rozdíly v účinnosti u jednotlivých vláken. Například DVB není schopen efektivně extrahovat malé molekuly. Jeho schopnost se výrazně zlepšuje až od oktanu. Naproti tomu vlákno se dvěma vrstvami je dobrým kompromisem. Plocha píků pro jednotlivé uhlovodíky roste na CAR<sup>TM</sup> vlákně až po hexadekan, pak následuje dramatický pokles [11].

## 2.4 Základní statistické pojmy

Pro použití výše popsané metody bylo nutné provést kalibraci. Kalibrace a její vyhodnocení je v souladu s normou ČSN ISO 8466-1 [15]. Tato norma obsahuje nejdůležitější statistické pojmy a charakteristiky, které se k vyhodnocování používají.

V normě [15] se jako ukazatele jakosti analytického postupu využívá hodnoty směrodatné odchylky metody  $s_{X0}$ . Podle knihy *Vyhodnocování analytických výsledků a metod* od autorů Eckschlager, Horsák, Kodejš [16] se k ověření kvality práce užívá srovnání hodnoty Studentova rozdělení s kritickou hodnotou.

### 2.4.1 Interval spolehlivosti průměru

Nevýhodou při odhadu parametru  $\mu$  výpočtem aritmetického průměru hodnot  $\bar{x}$  je, že tento odhad nevyjadřuje spolehlivost, s jakou byl určen. Nelze totiž prakticky předpokládat, že se skutečný obsah stanovované složky v analyzovaném roztoku přesně shoduje s průměrem nalezených výsledků.

Ze zkušenosti je patrné, že kdyby byla naměřena jiná série paralelních stanovení na témže vzorku, vyjde odlišná hodnota průměru. Tento problém je společný všem tzv. bodovým odhadům, kdy je odhadovaný parametr nahrazen jedinnou hodnotou, vypočtenou z naměřených dat. Proto bývá někdy výhodnější určit interval, v němž správná hodnota leží s vysokou pravděpodobností  $(1 - \alpha)$ . Tento interval se nazývá  $100(1 - \alpha)\%$  *interval spolehlivosti*, hodnota  $\alpha$  je *hladina významnosti* a  $(1 - \alpha)$  je *koeficient spolehlivosti*. Interval spolehlivosti je příkladem intervalových odhadů.[16]

### 2.4.2 Hladina významnosti

Hladina významnosti  $\alpha$  udává pravděpodobnost, že skutečná hodnota parametru neleží uvnitř tohoto  $100(1 - \alpha)\%$  intervalu. Zvolíme-li hodnotu  $\alpha$  velkou, vyjde interval úzký (výsledek je dosti určitý), ale pravděpodobnost, že skutečná hodnota opravdu leží v tomto intervalu, je malá a rovná se  $(1 - \alpha)$ . Zvolíme-li hodnotu  $\alpha$  malou, je pravděpodobnost, že interval spolehlivosti pokryje skutečnou hodnotu parametru  $\mu$ , velká, ale interval je široký. Pro  $\alpha = 0$ , tj. pro  $(1 - \alpha) = 1$ , když chceme mít jistotu, že skutečná hodnota obsahu stanovované složky leží v intervalu spolehlivosti, vychází pro normální rozdělení nekonečně široký interval s mezemi  $L_1 = -\infty$ ;  $L_2 = +\infty$ .

V praxi volíme zpravidla  $\alpha = 0,05$ , tedy  $(1 - \alpha) = 0,95$ . [16]

### 2.4.3 Správnost výsledků

Správnost výsledků, tj. statistickou významnost rozdílu průměru  $\bar{x}$  od skutečné hodnoty  $\xi$  tj. rozdílu  $|\bar{x} - \xi|$ , se testuje buď za použití směrodatné odchylky pomocí Studentova testu  $t$ . Porovnává se skutečná hodnota  $\xi$  s hodnotou  $\bar{x}$ , která je zatížena náhodnými chybami, jejichž rozdělení je normální a je charakterizováno hodnotou  $s$  nebo  $R$ . Testování se provádí porovnáním vypočtené hodnoty  $s$  tzv. *kritickou hodnotou*.

Testování vždy ověřuje určitou „*hypotézu*“, předpoklad - např. nulovou hypotézu, že rozdíl  $|\bar{x} - \xi|$  není statisticky významný, která se na základě testování přijímá nebo zamítá.[16]

#### Studentův test

Vypočtenou hodnotu

$$t = \frac{|\bar{x} - \xi|}{s} \quad (2.9)$$

srovnáme s kritickou hodnotou  $t_\alpha$ , kterou najdeme v tabulkách. Je-li  $t \geq t_\alpha$ , je rozdíl  $|\bar{x} - \xi|$  statisticky významný na hladině  $\alpha$ . Je-li  $t < t_\alpha$ , přijímáme nulovou hypotézu,

že rozdíl  $|\bar{x} - \xi|$  není statisticky významný a může být vysvětlen jen náhodnými chybami analýzy.

#### 2.4.4 Shodnost výsledků

Shodnost výsledků, tj. statistickou významnost rozdílu, se testuje obdobně jako správnost buď za použití směrodatných odchylek obou průměrů  $s_A, s_B$  pomocí Studentova testu  $t$ . Jde o porovnání dvou hodnot zatížených náhodnými chybami. Testuje se tak, že se hodnoty kritéria, vypočteného z výsledku analýz, porovnají s kritickou hodnotou. Kritické hodnoty jsou tabelovány pro daný počet výsledků, získaných oběma analytickými metodami ( $n_A, n_B$ ), nebo pro počet stupňů volnosti a pro hladinu významnosti  $\alpha$ , kterou volíme při rozhodování.

Při testování shodnosti za použití Studentova testu  $t$  používáme stejné kritické hodnoty jako při testování správnosti, jenom počet stupňů volnosti je rozdílný. Testování je velmi jednoduché v případě, kdy počet stanovení provedených oběma metodami je stejný, tj. kdy  $n_A = n_B = n$ . Pak ani při použití testu  $t$  nezáleží na tom, zda  $s_A^2$  a  $s_B^2$  jsou, či nejsou statisticky významně rozdílné, a testování lze provést i graficky.

#### Studentův test pro $n_A = n_B = n$

Studentův test  $t$  při zjišťování shodnosti výsledků na jednom analyzovaném vzorku. Hodnota Studentova kritéria pro  $n_A = n_B = n$  je:

$$t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B| \sqrt{(n-1)}}{\sqrt{s_A^2 + s_B^2}} \quad (2.10)$$

Srovnáme ji s kritickou hodnotou  $t_\alpha$ , kterou najdeme v tabulkách pro počet stupňů volnosti  $v = 2(n-1) = 2n-2$ , kde  $n$  je počet paralelních stanovení provedených každou z obou metod na témže vzorku. Je-li  $t \geq t_\alpha$ , je rozdíl  $|\bar{x}_A - \bar{x}_B|$  statisticky významný na hladině významnosti  $\alpha$ . Je-li  $t < t_\alpha$ , přijímáme nulovou hypotézu, že rozdíl obou průměrů není statisticky významný a může být vysvětlen jen náhodnými chybami obou stanovení.[16]

K výpočtům kritéria  $t$  lze s výhodou použít program Microsoft Excel a nástroje pro analýzu dat [16].

#### 2.4.5 Detekční limit dle Grahama

Detekční limit (DL) metody  $X_D$  představuje koncentraci analytu, která nemůže být na zvolené hladině statistické významnosti rozlišena od koncentrace nulové.

Metoda umožňuje nalézt detekční limit  $X_D^g$  včetně intervalů spolehlivosti. Výhoda této metody spočívá v tom, že DL lze vypočítat již z kalibrační křivky. Tento výpočet lze uskutečnit na základě Grahama předpokladu, že odezva přístroje je lineární až k nulové hodnotě.

Detekční limit  $X_D^\alpha$  chrání před chybou prvního druhu (vyplývá z hypotézy, že analyt je přítomen, i když ve skutečnosti přítomen není).[17]

$$\hat{x}_{1,2} = \frac{\hat{y} - a}{b} \pm \left( \frac{s_y \cdot t}{b} \times \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{\hat{n}} + \frac{(\hat{y} - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \right) \quad (2.11)$$

$X_D^\alpha$  byl počítán z rovnice 3.8 podle normy [15] tak, že byla hledána taková koncentrace jejíž dolní mez intervalu spolehlivosti je rovna nule.

#### 2.4.6 Detekční limit dle Miller - Millerové

Vzorec pro výpočet detekčního limitu dle Miller - Millerové taktéž využívá hodnot pro kalibraci. Vychází ze dvou předpokladů. První poukazuje na to, že detekční limit odpovídá informační hodnotě slepého stanovení [25].

Druhý vychází z konstantní homogenity rozptylu kolem kalibrační přímky. Říká, že detekční limit je koncentrace, která je rovna trojnásobku směrodatné odchylky bodů kalibrace. Z parametrů rovnice regresní přímky se vypočte její konečná podoba:

$$x_{1,2} = \frac{a \cdot 3s_y - a}{b} \quad (2.12)$$

Takto vypočtenou hodnotu informační veličiny lze s pravděpodobností 99,865 % odlišit od nuly.

**Mez stanovitelnosti dle Miller - Millerové** je koncentrace, která je rovna, oproti detekčnímu limitu dle Miller - Millerové, desetinásobku směrodatné odchylky [25]:

$$x_{1,2} = \frac{a \cdot 10s_y - a}{b} \quad (2.13)$$

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Veškeré operace při odebírání, skladování a měření vzorků vodovodní a povrchové vody byly prováděny v souladu s normou ČSN EN ISO 10301 - Jakost vod - Stanovení vysoce těkavých halogenovaných uhlovodíků - Metody plynové chromatografie [5]. Z této normy byla vybrána pouze část věnující se statické head-space metodě a analýze plynovou chromatografií

### 3.1 Seznam stanovovaných látek

V reálných vzorcích povrchové a pitné vody byly stanovovány níže vypsané těkavé organické sloučeniny. Tyto sloučeniny stanovuje ve svých analýzách Masarykův Výzkumný Ústav Vodohospodářský, kde byla tato práce měřena.

<i>1,1-dichlorethylen</i>	<i>1,3-dichlorpropan</i>	<i>tert-butylbenzen</i>
<i>dichlormethan</i>	<i>dibromchlormethan</i>	<i>1,3,5-trimetylbenzen</i>
<i>trans-1,2-dichlorethylen</i>	<i>1,2-dibromethan</i>	<i>sec-butylbenzen</i>
<i>1,1-dichlorethan</i>	<i>tetrachlorethylen</i>	<i>1,3-dichlorbenzen</i>
<i>cis-1,2-dichlorethylen</i>	<i>1,1,1,2-tetrachlorethan</i>	<i>1,4-dichlorbenzen</i>
<i>bromchlormethan</i>	<i>chlorbenzen</i>	<i>p-isopropyltoluen</i>
<i>chloroform</i>	<i>ethylbenzen</i>	<i>1,2-dichlorbenzen</i>
<i>2,2-dichlorpropan</i>	<i>m,p-Xylen</i>	<i>n-butylbenzen</i>
<i>1,2-dichlorethan</i>	<i>bromoform</i>	<i>1,2-dibromo-3-chlorpropan</i>
<i>1,1,1-trichlorethan</i>	<i>styren</i>	<i>1,3,5-trichlorbenzen</i>
<i>1,1-dichlorpropen</i>	<i>1,1,2,2-tetrachlorethan</i>	<i>naftalen</i>
<i>tetrachlormethan</i>	<i>o-Xylen</i>	<i>hexachlorbutadien</i>
<i>benzen</i>	<i>1,2,3-trichlorpropan</i>	<i>1,2,4-trichlorbenzen</i>
<i>dibrommethan</i>	<i>izopropylbenzen</i>	<i>1,2,3-trichlorbenzen</i>
<i>1,2-dichlorpropan</i>	<i>brombenzen</i>	<i>1-chlornaftalen</i>
<i>trichlorethylen</i>	<i>n-propylbenzen</i>	<i>1,2,4,5-tetrachlorbenzen</i>
<i>bromdichlormethan</i>	<i>2-chlortoluen</i>	<i>toluen</i>
<i>1,1,2-trichlorethan</i>	<i>4-chlortoluen</i>	<i>1,2,4-trimetylbenzen</i>

### 3.2 Postup měření

#### 3.2.1 Souhrnný popis používané metody

Do těsně uzavřených vialek s konstantním poměrem objemu vody k oběmu vzduchu byl přidán roztok vnitřního standardu. Po vytemperování vzorku na teplotu 60 °C byl prostor plynné fáze nad vzorkem extrahován pomocí SPME jehly s polydimethylsiloxanem



naneseným na křemenném vlákně. Po ustavení rovnováhy mezi polydimethylsiloxanem a plynnou fází bylo vlákno injektováno do vstupu plynového chromatografu. V polydimethylsiloxanu zachycené sloučeniny zde byly desorbovány při teplotě 250 °C a dále vstupovaly do chromatografické kolony. Po rozdělení vzorku v chromatografické koloně byly jeho jednotlivé složky detekovány a identifikovány hmotnostně selektivním detektorem pracujícím v režimu SIM<sup>1</sup> a signál zpracován počítačovou datastanicí. Takto získaný chromatogram byl kvalitativně a kvantitativně vyhodnocen na základě kalibračních křivek získaných proměřením řady roztoků standardů vzestupných koncentrací.

### 3.2.2 Meřící přístroj

Jednakanálový plynový chromatograf - Agilent 6850. Přístroj je vybaven elektronickou kontrolou průtoku a tlaku plynů, teplotně programovatelným injektorem v režimu split a splitless. Dávkování je zajištěno robotickým systémem CombiPAL. Součástí analytické soustavy je hmotnostně selektivní detektor Agilent 5973 ve spojení s počítačovou datastanicí vybavenou programem HP Chemstation MS. Agilent 5973 pracuje s kvadrupólovým elektrofiltrem a samotnou detekci zajišťuje elektronásobič (viz. Přílohy obr. P.6).



Obr. 3.1: Používaný plynový chromatograf

---

<sup>1</sup>Single Ion Mode

### 3.2.3 Zařízení a pomůcky

- Univerzální automatický dávkovač Combi PAL
- Vlákno s vrstvou 100  $\mu\text{m}$  polydimethylsiloxanu
- Širokohrdlé vialky o objemu 20 ml s magnetickými víčky se septem silikon-teflon
- Injekční stříkačky dělené (10  $\mu\text{l}$  a 50  $\mu\text{l}$ )



Obr. 3.2: Vzorovací vialky (vlevo), automatický dávkovač Combi PAL (vpravo)

### 3.2.4 Chemikálie

- Směsný roztok standardů
- Roztok vnitřního standardu
- Chlorid sodný
- Demineralizovaná voda

### 3.2.5 Odběr vzorků

Každou vialku bylo nutné před samotným odběrem vzorku připravit. Veškeré odběrové vialky byly vymyty horkou vodou s přidávkem saponátu, vypláchnuty dvakrát vodovodní vodou, dvakrát po 100 ml demineralizovanou vodou a nakonec malým množstvím acetonu p.a. Následně byl nadávkován NaCl a vialky byly umístěny do sušárny vyhřáté na

250 °C ± 20 °C na dobu 5 hodin. Po vychladnutí jsou vialky uzavřeny vždy novým šroubovacím uzávěrem. Takto připravené vialky se až do samotného odběru již nesmí otevírat. Zabrání se tak případné kontaminaci. Na závěr je vhodné tuto vzorkovací nádobku opatřit ryskou znázorňující výšku hladiny odebíraného vzorku vody (obr. 3.3).



**Obr. 3.3: Ukázka odběru vzorků - potok Ponávka**

Ke každé analýze bylo odebráno po dvou vzorcích. Při odebírání vzorku z potrubí je dobré nechat napřed odtéct dostatečný objem vody tak, aby se zabránilo znečištění pocházející přímo z místa odběru (např. kohoutku).

Pokud nebyly vzorky změřeny do tří hodin, bylo nutné uchovávat je při teplotě do 5 °C. Samotnou analýzu bylo pak nutné provést do 48 h. To jak se koncentrace těkavých látek snižuje v závislosti na čase bylo proměřeno experimentálně (viz. dále).

### **3.2.6 Příprava vzorku k analýze**

Roztok vnitřního standardu se vyjme s chladničky a vytemperuje se na laboratorní teplotu. Vialky s odebranými vzorky vody se taktéž vyjmu s chladničky. Do každé vialky se přes septum nadávkuje injekční stříkačkou 25  $\mu$ l methanolického roztoku vnitřního standardu o koncentraci 20  $\mu$ g/ml a vialka se dobře promíchá. Vzorky jsou připraveny k analýze. Dále se nastaví samotná sekvence chromatografu podle podrobného pracovního postupu přiloženého k přístroji. Jednotlivé vialky se vzorkem se na závěr umístí do otvoru v „tray“ dávkovače Combi PAL.

### 3.2.7 Nastavení přístroje

**Plynový chromatograf:** Nástřík splitless, kolona DB-VRX (speciálně upravená kolona pro volatilní látky), délka 60 m, průměr 0,25 mm, tloušťka stacionární fáze 1,4  $\mu\text{m}$

**Nastavení teplotního programu termostatu:** Počáteční teplota 40 °C po dobu 2 minut, pak 3,5 °C · min.<sup>-1</sup> do 180 °C, pak 10 °C · min.<sup>-1</sup> do 250 °C a následně setrvání na této teplotě po dobu 12 min.

**Teplota injektoru** je 250 °C a teplota interface je také 250 °C.

**Průtok nosného plynu:** Naprogramován konstantní průtok 1 ml · min.<sup>-1</sup> s tlakovým pulsem 250 kPa po dobu 2 minut při nástřiku. Nástřík splitless probíhá po dobu 2 minut.

**Nastavení hmotnostně selektivního detektoru:** Režim SIM (Single Ion Mode) jednotlivé sloučeniny jsou identifikovány a kvantifikovány na základě detekce příslušných iontů podle tabulky iontů jednotlivých analytů, uvedené v příslušné metodě v software Chemstation.

### 3.2.8 Analýza

Na přístroji GC-MS se nastaví příslušné metody (GC metoda A-TOL4, MS metoda TOL57, Combi PAL, metoda SPME, multi step). Jakmile teplota termostatu stoupne na 40 °C a setrvá na této teplotě nejméně 3 min, je přístroj připraven k analýze. Před vlastní analýzou se v počítači zapíše označení a název měřeného vzorku do příslušné sekvence. Sorbce analytů na vlákno je prováděna po dobu 45 min při teplotě 60 °C. Desorpce v injektoru je na dávkovači nastavena na 5 minut. Kondicionace vlákna před každou analýzou jednotlivých vzorků je nastavena na 9 minut. Po ukončení analýzy se provede vyhodnocení chromatogramu pomocí software Chemstation - MS a výsledky se vloží do tabulky v MS Excel. Výsledky, pokud není požadováno jinak, se vyjadřují v  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  vody jednotlivých sloučenin.

### 3.2.9 Slepý pokus

Postupuje se stejně, ale pracuje se s 10 ml demineralizované vody místo zkoušeného vzorku.

### 3.2.10 Regulační diagram

S každou sadou vzorků (sekvencí) je analyzován kromě blanku také nezávislý kontrolní vzorek, připravený přidavkem nezávislého standardu do demineralizované vody a zpracován celým analytickým postupem. V případě malé četnosti vzorků je tento kontrolní vzorek analyzován nejméně dvakrát měsíčně. Jeho hodnota je porovnávána s regulačním diagramem a v případě překročení kontrolních mezí v diagramu jsou provedena následující nápravná opatření:

- kontrola nulové hodnoty blanku
- výměna septa
- kontrola a vyčištění nebo výměna lineru a inletu
- kontrola těsnosti spojů
- recalibrace metody
- kontrola citlivosti detektoru
- kontrola zda teplotní a tlakový program odpovídá nastaveným hodnotám

V případě, že jsou tato opatření neúčinná, je analýza vzorků pozastavena a je nutné objednat odborný servis. Po zjištění a odstranění závady se provede nová kalibrace, ověří se nezávislým standardem a je-li to možné, změří se znovu všechny vzorky od posledního vyhovujícího standardu.

### 3.3 Kalibrace metody

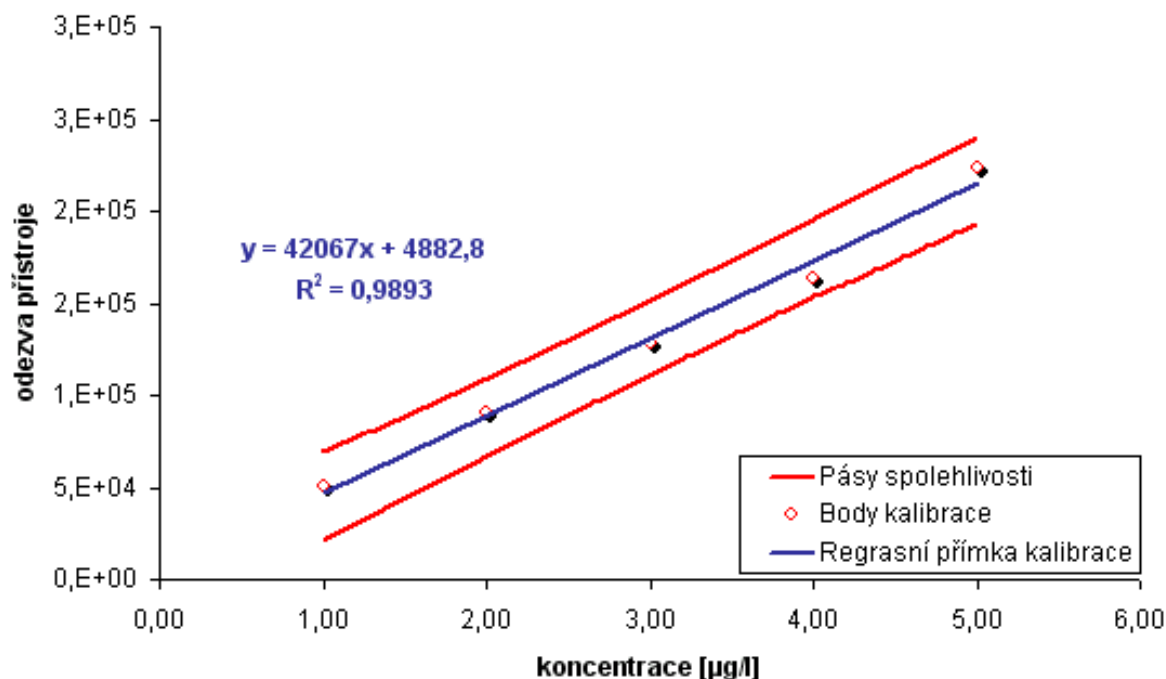
Kalibrační křivka je pro každou sloučeninu sestavena pomocí řady kalibračních vzorků s přídatkem konstantního množství vnitřního standardu. Jednotlivé kalibrační roztoky jsou připravovány dávkováním roztoku standardu v methanolu. Roztoky jsou dávkovány do stejných vialek, do kterých jsou odebírány vzorky. Roztok standardu je přidáván k 10 ml ultračisté vody (tato voda je připravována pomocí přístroje MILIPORE - kombinace iontoměniče, akt. uhlí a UV záření. Kalibrace byla rozdělena do dvou koncentračních hladin. První hladina byla zvolena o koncentracích  $1-5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Druhou tvořila řada o koncentracích  $10-40 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  dělená po 5-ti  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$

Kalibrační roztoky jsou ředěny z komerčně dostupných směsných standardů. Pro kontrolu se používá nezávislý kontrolní standard o stejném složení jako pro kalibraci, který je dávkován do ultračisté vody, analyzován a výsledek je zaznamenáván do regulačního diagramu. Veškeré kalibrační roztoky se uchovávají v chladničce do 5 °C.

#### 3.3.1 Kontrolní vzorky

*Koncentrační úroveň povrchové vody - 5  $\mu\text{g}$ :* Postupuje se stejně, ale místo zkoušeného vzorku se pracuje s 10 ml demineralizované vody, do které se nadávkuje 5  $\mu\text{l}$  roztoku analytu označeného „Zásobní roztok TOL-REG“, který je uložen v chladničce.

*Koncentrační úroveň povrchové vody - 50  $\mu\text{g}$ :* Postupuje se stejně, ale místo zkoušeného vzorku se pracuje s 10 ml demineralizované vody, do které se nadávkuje 50  $\mu\text{l}$  roztoku analytu označeného „Zásobní roztok TOL-REG“, který je uložen v chladničce.



Graf 3.1: Stanovení 1,2,3-trichlorpropanu - kalibrační závislost s intervalem spolehlivosti

### 3.3.2 Kalibrační funkce s použitím vnitřního standardu

Tento postup vylučuje chyby proměnlivého objemu nástřiku a do jisté míry i poměru fázových objemů a rušivého vlivu matrice vzorku

Jako vnitřní standard se volí látka podobných fyzikálních a chemických vlastností (fázová rovnováha, tlak par, retenční čas, odezva detektoru) jako stanovovaná složka. Nevylučuje se použití několika vnitřních standardů.

Jak již bylo řečeno vnitřní standard se přidává ke vzorku před analýzou. Hmotnostní koncentrace vnitřního standardu musí být stejná v roztoku pro slepé stanovení, ve vzorku vody a v kalibračních roztocích [5].

Pro tuto práci byly použity tři vnitřní standardy, kterými byly vyhodnocovány vzorky vody:

- (IS1) 1-fluorbenzen
- (IS2) chlorbenzen-d5
- (IS3) 1,4-dichlorbenzen

Tyto sloučeniny jsou komerčně dostupné jako methanolický roztok o koncentraci  $20 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Standardy jsou izotopicky označené - deuterované, aby bylo možné odlišit standardy od analytu.

## Vyhodnocení s použitím vnitřního standardu

V softwaru ChemStation, který byl použit na vyhodnocení vzorků je nastaven automatický výpočet vnitřní standardizace. Rovnice pro výpočet absolutní koncentrace komponenty se kterou ChemStation počítá vypadá takto:

$$\text{Conc of } q = \text{Corrected Conc Ratio} \times \text{Conc of internal standard}$$

$$\text{Absolute conc of } q = \text{Conc of } q \times M$$

kde *Corrected Conc ratio* je korigovaný koncentrační poměr. Je to koncentrace partikulární komponenty dělená koncentrací interního standardu na dané úrovni. *M* je hodnota specifikovaná v boxu Database Globals v poli Multiplier. [26].

Vzhledem k tomu, že specifická hodnota není běžně dostupná, byla provedena korekce na vnitřní standard ručně. Výpočet byl uskutečněn z odezvy přístroje v programu MS Excel. Výpočet slouží mimo jiné k ilustraci rozdílu hodnot pro porovnání vyhodnocování za použití vnitřního standardu a bez něj. Pro výpočet byl použit tenhle vzorec:

$$P_i^* = \frac{P_i}{P_{IS}} \cdot P_{IS}^{pr.} \quad (3.1)$$

kde  $P_i^*$  je korigovaná hodnota odezvy přístroje na analyt,  $P_i$  je nekorigovaná hodnota odezvy přístroje na analyt,  $P_{IS}$  je hodnota odezvy příslušného vnitřního standardu a  $P_{IS}^{pr.}$  je průměr hodnot odezvy vnitřního standardu z každého bodu kalibrace.

Do výpočtu korigované hodnoty odezvy byl zahrnut vždy takový vnitřní standard, jehož velikost plochy píku byla srovnatelná s plochou píku analytu.

## 3.4 Optimalizace podmínek metody

### 3.4.1 Závislost koncentrace TOL na čase

Při skladování odebraných vzorků se s časem mění množství přítomných těkavých sloučenin. Není zcela jasné co se s danými látkami děje. Experimentálně však bylo zjištěno, že se jejich koncentrace snižuje.

Podmínky experimentu byly nastaveny tak jak tomu je při odebírání a skladování reálných vzorků. Na začátku byly vzaty do práce vialky stejně upravené a připravené jako na odběr reálných vzorků vody. Pokus byl uskutečněn v pěti dnech, přičemž bylo připraveno pět resp. deset (dvě koncentrační úrovně) identických vzorků v jednom dni. Měření začlo až po prvních 24 hod., kdy byl zjištěn stav množství těkavých látek po jednom dni. Další vzorek byl proměřen po 48 hod. a tak dále až do 120 hodin.

Do vyžíhaných vialek bylo napipetováno 10 ml demineralizované vody (z přístroje MILIPORE) a pomocí vhodných injekčních stříkaček nadávkován roztok standardů (neboli

kalibrační mix) o stejné koncentraci jako je používáno pro kalibraci metody. Na každý den bylo připraveno dvou koncentračních úrovní stejné jako kontrolní vzorky, tedy 5 a 50  $\mu\text{g}$  těkavých látek. Vnitřní standard byl dávkován vždy až před samotným měřením, tedy jen do těch vialek, které byl v daný den měřeny. Stejně tak byl pro každý den připraven nový slepý vzorek.

### 3.4.2 Teplota sorpce

Experimentálně bylo zjištěno, že různé teploty při průběhu samotné sorpce ovlivňují množství extrahovaného analytu. Proto byla proměřena řada stejných vzorků při různé teplotě sorpce.

Pro tento pokus byly použity stejně připravené vialky jako pro odběr reálných vzorků. Do těchto vialek bylo napipetováno 10 ml demineralizované vody a pomocí vhodných injekčních stříkaček nadávkován roztok standardů (neboli kalibrační mix) o stejné koncentraci jako je používáno pro kalibraci metody. Pro každou zvolenou teplotu bylo připraveno dvou koncentračních úrovní stejné jako kontrolní vzorky, tedy 5 a 50  $\mu\text{g}$  těkavých látek. Dále byl pak nadávkován vnitřní standard obdobně jako u reálných vzorků. Na závěr se připraví blank pro toto stanovení.

Teploty byly voleny následovně: 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 °C. Vyhodnocení bylo provedeno pro každou těkavou látku zvlášť.

## 3.5 Prohlášení k metodě

Charakteristiky metody vyhovují požadavkům na obsah vybraných sloučenin v povrchových vodách pro posouzení jakosti dle ČSN 75 7221 - Jakost vod – Klasifikace jakosti povrchových vod [18]. V pitných vodách vyhovují požadavkům dle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví 252/2004 Sb. ze dne 22.4.2004 [19]. Rovněž vyhovuje i požadavkům na obsah TOL.

## 3.6 Lokality odběru vzorků

Jedním z cílů této práce bylo touto metodou proměřit reálné vzorky vody a to vodovodní i povrchové.

Pro *povrchovou vodu* byly odebírány vzorky tekoucích vod z lokality Brno-město. Vzorkovací místa byla určena tak, aby se zjistilo potenciální znečištění těkavými organickými látkami, které městská aglomerace může způsobit. Vzorky byly proto odebírány vždy před městem a následně pak za městem. Rozdíl v hodnotách měl pak poukázat na přírůstek znečištění způsobený městskou zástavbou. Takové měření bylo uskutečněno na řekách Svitavě a Svatce. Vzorkovací místa, i s jejich fotografiemi, jsou vyznačena na mapách (viz. Výsledky a diskuze)



Zvláštního zřetele se dočkal potok Ponávka. Tak jako řeky Svitava a Svratka protéká městskou zástavbou. Koryto tohoto potoka je umístěno vedle hned několika možných zdrojů znečištění. Proto bylo vzorkování rozděleno do více částí než jen před městem a za městem.

Koryto potoku Ponávka téměř polovinu své cesty leží vedle vlakových kolejí a neda- leko vlakového nádraží. Zároveň leží vedle největší brněnské firmy zaměřené na výrobu chemikálií a léků. V neposlední řadě je tento potok před částí Brno-střed ukryt pod zemí, kde se možnost výskytu polutantů zvyšuje. Není totiž vyloučeno, že v těchto nepřístup- ných prostorách nedochází ke smíchání potoku s případným zdrojem znečištění. Z těchto důvodů byly odebrány vzorky na celkem pěti místech. Vzorkovací místa, i s jejich foto- grafii, jsou vyznačena na mapách (viz. Výsledky a diskuze)

Pro **vodovodní vodu** byly odebírány vzorky vody z různých městských částí Brna a vytypovaných míst kraje Vysočina.

V této vodě nebyly očekávané žádné výrazné znečištění, proto byla pozornost ubírána především k vedlejším produktům dezinfekce vody.

Speciálním typem odběrové lokality byla čistírna **odpadních vod** Jaderné elektrárny Dukovany. Zde bylo možné měřit obsah těkavých organických látek z různých typů vod. Šlo o splach dešťové vody přicházející z areálu a vodu z chladících věží. Dále pak již o vodu splaškovou.

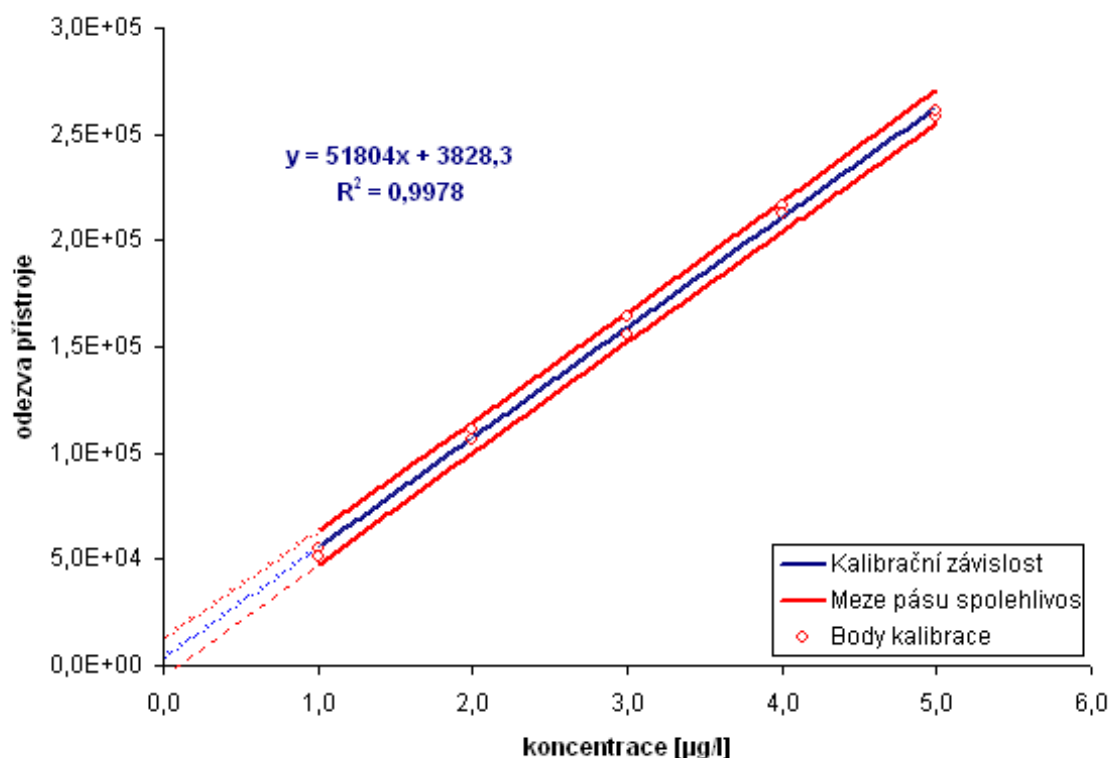
## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Dle zadání této práce byla zpracována teoretická část týkající se výskytu těkavých organických látek v povrchové a pitné vodě. Součástí této problematiky je pak i souhrn metod, kterými je možné tyto látky separovat a následně analyzovat. Podrobnější popis byl proveden u stěžejní metody této práce, a to u metody head space SPME.

V rámci experimentální části pak byly stanovovány těkavé organické látky v reálných vzorcích vody. Samotnému odběru vzorků předcházela kalibrace a optimalizace podmínek této metody. Na pracovišti (VÚV Brno), kde byla tato práce měřena se stanovuje celkem 57 těkavých látek, a to ve vodě pitné, povrchové i odpadní. Pro potřeby této práce bylo vybráno 23 sloučenin, které se vyskytovaly v odebraných vzorcích vody nejčastěji.

### 4.1 Kalibrace

Výběr sloučenin ke kalibraci byl proveden následovně. Nejprve byly odebrány vzorky vodovodní a povrchové vody v lokalitě Brno-město a Brno-venkov za účelem zjištění, které látky se v těchto vodách vyskytují v největší míře. Tyto vzorky byly vyhodnoceny metodou, která se běžně používá v laboratoři VÚV Brno. Z informací o výskytu TOL v mých vzorcích jsem vybral tedy celkem 23 látek, na které pak byla metoda nakalibrována. Veškeré další vzorky byly pak už vyhodnocovány touto nakalibrovanou metodou.

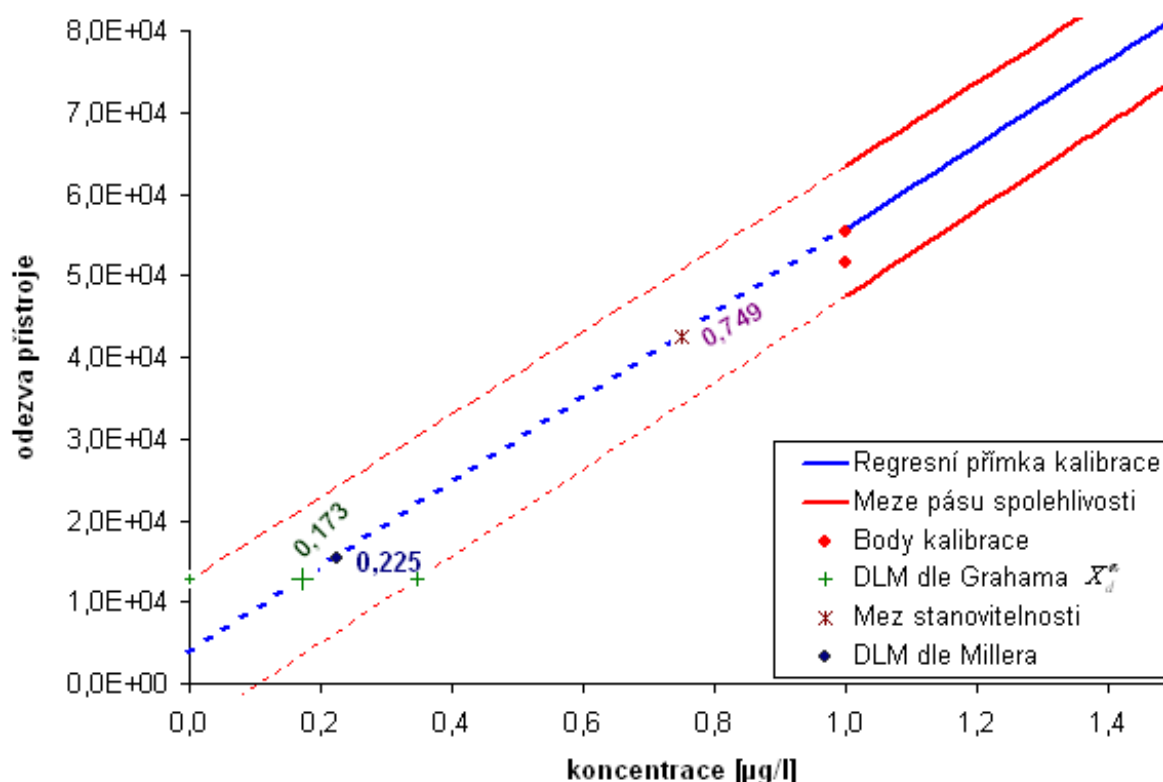


Graf 4.1: Chloroform - kalibrační závislost s intervalem spolehlivosti (s interní standardizací)

Kalibrace byla měřena ze směsného roztoku standardů, proto je průběh kalibračních grafů podobný všem hledaným látkám. Z těchto důvodů zde není uvedeno všech 23 grafů kalibrační závislosti, ale jen některý z nich. Vzhledem k nejčastějšímu výskytu byl vybrán chloroform.

Pracovní rozsah kalibrace byl zvolen v závislosti na výsledcích prvních zkušebních analýz. Těkavé látky se v 90 % vyskytovaly o koncentraci do  $5 \mu\text{g.l}^{-1}$ . Z tohoto důvodu byly zvoleny dva rozsahy. První byl od 1 do  $5 \mu\text{g.l}^{-1}$ . Tento rozsah byl dělen po  $1 \mu\text{g.l}^{-1}$ . A pro zajištění vyšších koncentrací byl zvolen druhý rozsah od 5 do  $40 \mu\text{g.l}^{-1}$  (dělen po  $5 \mu\text{g.l}^{-1}$ ).

Vyhodnocování probíhá v programu ChemStation automaticky podle dopředu nastavených retenčních časů a takzvaných target iontů specifických pro každou sloučeninu. Každý změřený vzorek však byl pro kontrolu vyhodnocován i manuálně. Program dovoluje kontrolovat i opravovat integrované píky. ChemStation vygeneruje hodnoty koncentrací pro absolutní kalibraci. V reportu jsou rovněž zaznamenány zintegrované plochy píků, které byly exportovány do programu MS Excel ke zpracování. Následně byla provedena interní standardizace z ploch píků a sestrojena kalibrační závislost s vyznačenými mezemi pásu spolehlivosti. Dle výše popsanych postupů byly vypočítány validační parametry: linearita, detekční limity dle Grahama a Miller-Millerové, mez stanovitelnosti dle Miller-Millerové.



Graf 4.2: Kalibrace chloroformu - detekční limity a mez stanovitelnosti (s interní standardizací)

Přehled validačních parametrů kalibrace z obou pracovních rozsahů jsou vyobrazeny v tabulkách 4.1, 4.2, 4.3 a 4.4. Na ukázkou jsou v tabulkách pouze některé sloučeniny. Souhrn všech měřených sloučenin i s jejich parametry jsou pak sepsány v přílohách. Pro srovnání jsou zde uvedeny i parametry bez interní standardizace.

**Tab. 4.1: Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah 1-5  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . BEZ interní standardizace**

č.	Sloučenina	Pracovní rozsah 1-5 $\mu\text{g.l}^{-1}$			
		Linearita	DLM Graham	DLM Miller	MS Miller
		$R^2$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$
2	chloroform	0,9907	0,35	0,46	1,53
7	bromdichlormethan	0,9852	0,43	0,58	1,94
8	toluen	0,9617	0,68	0,95	3,16
15	bromoform	0,9802	0,50	0,67	2,25
18	1,2,3-trichlorpropan	0,9852	0,43	0,58	1,94

**Tab. 4.2: Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah 1-5  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . S interní standardizací**

č.	Sloučenina	Pracovní rozsah 1-5 $\mu\text{g.l}^{-1}$			
		Linearita	DLM Graham	DLM Miller	MS Miller
		$R^2$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$
2	chloroform	0,9917	0,17	0,23	0,75
7	bromdichlormethan	0,9946	0,27	0,35	1,17
8	toluen	0,9933	0,30	0,39	1,30
15	bromoform	0,9922	0,32	0,42	1,40
18	1,2,3-trichlorpropan	0,9903	0,35	0,47	1,57

**Tab. 4.3: Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah 5-40  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . BEZ interní standardizace**

č.	Sloučenina	Pracovní rozsah 5-40 $\mu\text{g.l}^{-1}$			
		Linearita	DLM Graham	DLM Miller	MS Miller
		$R^2$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$
1	chloroform	0,9802	3,45	5,23	17,42
2	bromdichlormethan	0,9795	3,50	5,31	17,71
3	toluen	0,9854	2,97	4,48	14,92
4	bromoform	0,9753	3,83	5,84	19,47
5	1,2,3-trichlorpropan	0,9827	3,22	4,87	16,25

**Tab. 4.4: Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah 5-40  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . S interní standardizací**

č.	Sloučenina	Pracovní rozsah 5-40 $\mu\text{g.l}^{-1}$			
		Linearita	DLM Graham	DLM Miller	MS Miller
		$R^2$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$
1	chloroform	0,9808	3,39	5,15	17,15
2	bromdichlormethan	0,9865	2,86	4,30	14,34
3	toluen	0,9911	2,32	3,48	11,59
4	bromoform	0,9819	3,30	4,99	16,63
5	1,2,3-trichlorpropan	0,9865	2,86	4,30	14,34

## 4.2 Optimalizace podmínek metody

Dle uskutečněných experimentů bylo zjištěno, že teplota při které probíhá sorpce analytu, značně ovlivňuje množství analytu skutečně nasorbovaného.

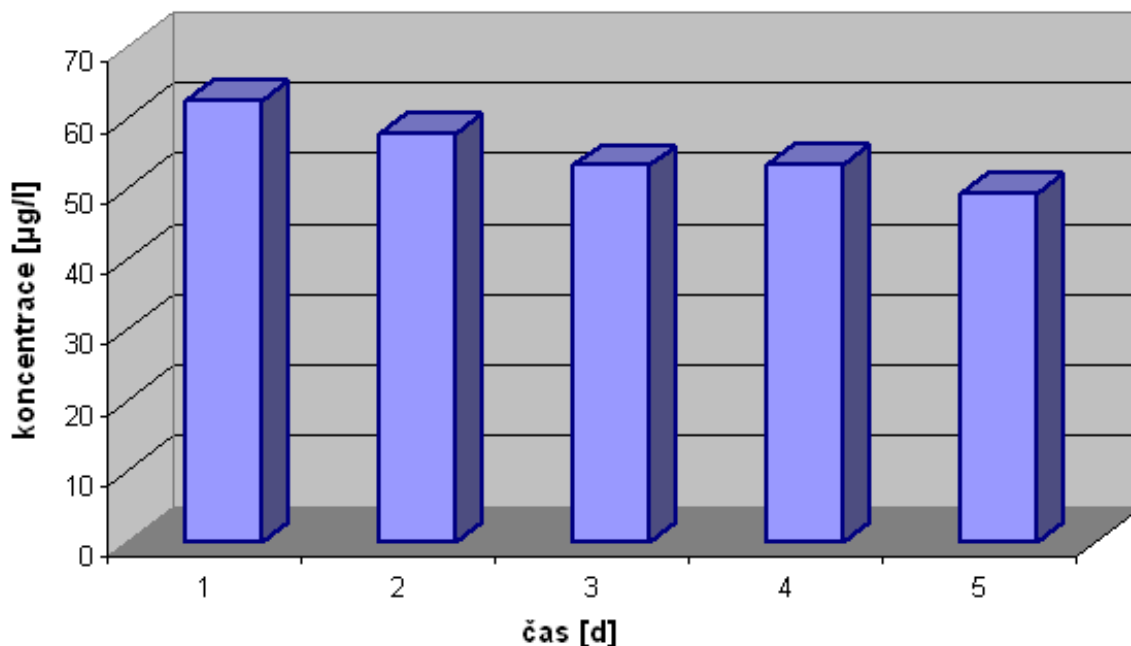
Každá sloučenina se díky svým fyzikálně - chemickým vlastnostem chová jinak, proto výsledky těchto experimentů nedopadly u všech stanovovaných látek shodně. Lze však konstatovat, že 90 % stanovovaných látek vykazovalo nejvyšší množství nasorbovaného analytu při 60 °C. Zbytek látek se pohyboval v rozmezí  $\pm 5$  °C.

V nejlepším případě by se tento pokus měl měřit s každou volatilní látkou zvlášť.

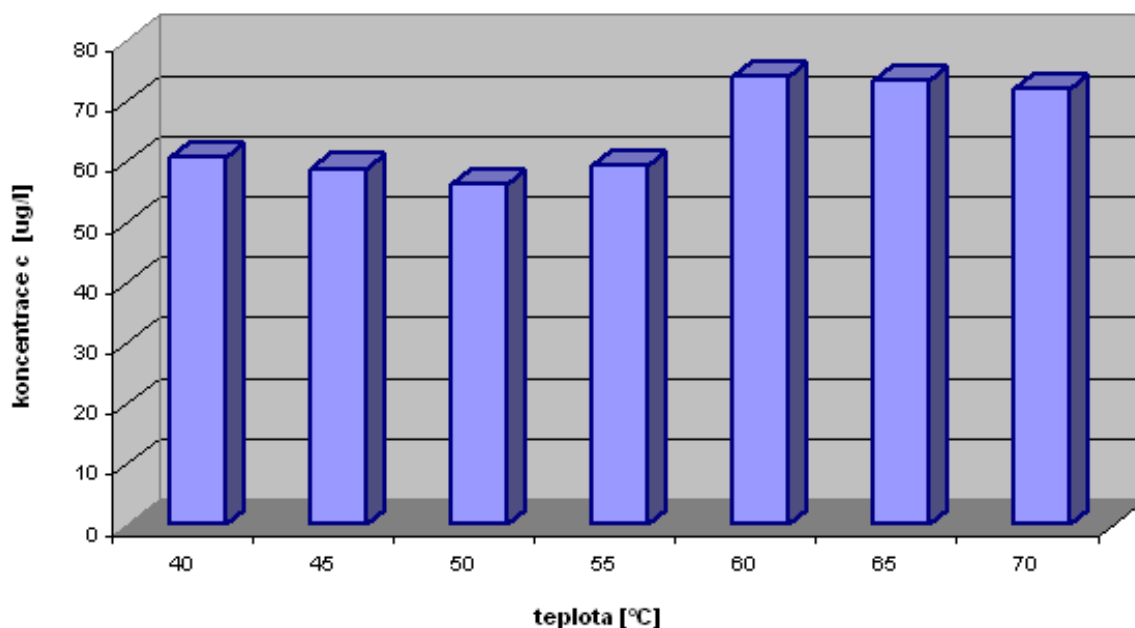
Vzhledem k tomu, že byl k dispozici pouze směsný standard, nebylo možné k tomuto kroku přistoupit.

Veškeré reálné vzorky tedy měly nastavenou teplotu sorpce na konstantních 60 °C.

Doporučení analyzovat odebrané vzorky neprodleně je obecně známé. Někdy to však není možné a musí se vzorky skladovat. To jak se koncentrace těkavých látek mění s časem ukazoval další experiment. Uměle připravené vzorky byly záměrně měřeny v různých časových intervalech. To jak klesá koncentrace chloroformu ukazuje graf 4.3.



Graf 4.3: Závislost množství chloroformu na čase



Graf 4.4: Závislost nasorbovaného množství chloroformu na teplotě

## 4.3 Výsledky reálných vzorků

Zde jsou uvedeny výsledky měření reálných vzorků s komentáři a popisy odběrových míst.

### 4.3.1 Povrchová voda - Svitava, Svatka

Pozornost byla nejdříve věnována dvěma řekám protékající Brnem. U těchto řek byl sledován stav po průtoku městem.

Byl odebrán vždy vzorek před a za městem. První vzorek na řece Svitavě byl odebrán v Brně-Obřanech. Na mapě 4.1 označen jako 1A. Další odběr byl uskutečněn v Horních Heršpicích za dálničním viaduktem (1B).

Na Svatce byl odebrán vzorek na začátku Jundrova poblíž ulice Veslařská (2A) a za městem na této řece taktéž v Horních Heršpicích za dálničním viaduktem. Posledním vzorek byl odebrán na soutoku těchto řek. Fotografie s místy odběru jsou uvedeny v kapitole Přílohy.

Z výsledků vyobrazených v tabulce 4.5 je patrné, že městská zástavba nemá vliv na znečišťování vody těkavými látkami. Lehce zvýšená hodnota byla zaznamenána u 1,2-dichlorpropanu. Tato sloučenina byla nalezena za městem na řece Svitavě. Šlo pravděpodobně o jednorázové znečištění, protože opakované měření již tuto látku nepotvrdilo.



Obr. 4.1: Mapa odběrových míst povrchové vody na řece Svitavě, Svatce a na jejich soutoku.

Tab. 4.5: Výsledné hodnoty koncentrace TOL v povrchové vodě - Svitava, Svatka

Měřené TOL ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	1A	1B	2A	2B	soutok
benzen	1,04	1,65	0,00	0,05	0,00
1,2-dichlorpropan	0,00	0,01	0,00	7,07	0,00
trichlorethylen	0,01	0,06	0,00	0,34	0,19
toluen	1,61	0,11	0,00	0,00	0,00
tetrachlorethylen	0,06	0,13	0,01	1,16	0,69

### 4.3.2 Povrchová voda - Ponávka



Obr. 4.2: Mapa odběrových míst povrchové vody na potoku Ponávka.

Na mapce 4.3.2 jsou znázorněna odběrová místa na potoku Ponávka. První odběrové místo bylo zvoleno na začátku městské části Brno - Řečkovice, před průmyslovou zónou (3A). Další odběr byl uskutečněn za Řečkovicemi a za průmyslovou zónou (3B).

Další bod monitoringu byl před vtokem do podzemní části koryta (3C). Dále byl vzorek odebrán v Lužáneckém parku (3D). Zde je malá vodní plocha, kam se čerpá voda z podzemního toku Ponávky. Předposlední vzorek byl odebírán poblíž autobusového nádraží Zvonařka (3E), kde už Ponávka opět protéká na volném prostranství. Poslední místo odběru bylo před soutokem Ponávky se Svatkou (3F).

Vzhledem k trase koryta, která vede i pod povrchem, kde je vyšší riziko kontaminace, nebylo zjištěno žádné výrazné znečištění těkavými organickými látkami. Látky které měly pozitivní výsledek jsou uvedeny v tab. 4.6. Ostatní sloučeniny nebyly detekovány vůbec nebo byly pod detekčními limity. Fotografie odběrových míst jsou v kapitole Přílohy.

Tab. 4.6: Výsledné hodnoty koncentrace TOL v povrchové vodě - Ponávka

Měřené TOL ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	3A	3B	3C	3D	3E	3F
trichlorethylen	0,00	0,02	0,00	0,15	0,02	0,06
tetrachlorethylen	0,00	0,01	0,01	0,29	0,07	0,04



### 4.3.3 Vodovodní voda - Brno město



Obr. 4.3: Mapa odběrových míst vodovodní vody v lokalitě Brno - město.

Další vzorky odebírané pro analýzu se týkaly vodovodní vody. Na výše uvedené mapce jsou vyobrazené lokality odběrů. Místa byla vybrána tak, aby byl zřejmý stav vodovodní vody v celém městě.

Prvním místem byla městská část Brno - Bohunice (4A). Zde byla voda odebírána z vodovodu u čerpací stanice na ulici Jihlavská. Dalším místem byla část Slatina (4B). Voda pocházela z vodovodu čerpací stanice na ulici Hvězdoslavova. Dále se jednalo o vodu z Horních Heršpic (4C). Odebrána byla z vodovodu v nákupním centru. Další vzorek byl ze soukromého domu na ulici Charbulova v Brně - Černovicích (4D). Předposlední vzorek byl z vodovodu v budově VUT fakulty chemické na ulici Purkyňova v Králově Poli (4E). Poslední odběr byl na Lesné z vodovodu čerpací stanice na ulici Okružní (4F).

Výsledky hodnot nad detekčním limitem jsou znázorněny v tabulce 4.7.

Tab. 4.7: Výsledné hodnoty koncentrace TOL ve vodovodní vodě - Brno město

Měřené TOL ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	4A	4B	4C	4D	4E	4F
chloroform	0,00	0,01	0,00	0,85	0,00	2,08
bromdichlormethan	0,00	0,00	0,00	1,49	0,00	2,42
toluen	2,90	2,18	3,23	0,00	6,38	7,09
dibromchlormethan	0,00	0,00	0,00	2,12	0,00	2,82
tetrachlorethylen	0,45	0,54	0,54	0,36	0,59	0,26
ethylbenzen	0,16	0,02	0,05	0,01	0,04	0,06
bromoform	0,00	0,00	0,00	0,96	0,00	0,00

#### 4.3.4 Vodovodní voda - Třebíčsko



Obr. 4.4: Mapa odběrových míst vodovodní vody - Třebíčsko.

Další sada vzorků odebraných k analýze byla z oblasti kraje Vysočiny. Jednalo se o vodu z okolí Třebíče. Tato sada vzorků měla poukázat na změnu jakosti vodovodní vody ze sítě úpravny vody Štítary. Popis odběrových míst bude uveden postupně dle vzdálenosti od úpravny vody Štítary.

Tab. 4.8: Výsledné hodnoty koncentrace TOL ve vodovodní vodě - Třebíčsko

Měřené TOL ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	5A	5B	5C	5D	5E	5F	5G	5H
chloroform	1,41	25,27	1,74	8,91	11,88	1,55	1,86	16,24
benzen	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,81
bromdichlormethan	0,33	6,20	0,59	2,28	2,52	0,27	0,34	4,32
toluen	0,32	0,33	0,44	0,00	0,00	0,46	0,31	0,12
dibromchlormethan	0,00	1,32	0,00	0,34	0,18	0,00	0,00	1,02
chlorbenzen	0,05	0,08	0,06	0,00	0,00	0,09	0,06	0,05
ethylbenzen	0,02	0,00	0,03	0,01	0,00	0,00	0,00	0,22
m,p-Xylen	0,11	0,04	0,11	0,00	0,00	0,10	0,06	0,03
bromoform	0,17	0,10	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26

Nejblíže jsou Moravské Budějovice (5A). Další odběr je z vesnice Budkov (5B), pak Jaroměřice nad Rokytnou (5C). V Třebíči byla odebrána voda na dvou místech, protože podle mapy vodovodů je do severní části města dodávána voda pravděpodobně z úpravní vody Mostiště. Vzorky byly tedy odebrány z jižní (4D) a severní (4E) části města. Další vzorek pochází z obce Dukovany (5F), pak Náměšť nad Oslavou (5G). Během tohoto výjezdu byl ještě odebrán vzorek z jiné vodovodní sítě. Tento odběr byl uskutečněn v obci Velká Bíteš (5H). Obec je zásobovaná z úpravní vody v Mostišti (5H).

Rozdíl hodnot chloroformu obsaženého ve vzorcích z města Třebíč lze usuzovat, že se skutečně jedná o rozdílné vodovody. Není příliš pravděpodobné, že by se na tak krátkém úseku změnila koncentrace chloroformu ve vodě o téměř  $3 \mu\text{g.l}^{-1}$ . Vysoká hodnota chloroformu v Budkově lze vysvětlit snad jen znečištěným potrubním vedením, protože je to druhá nejbližší lokalita od úpravní vody. Vytvoření takového množství chloroformu za tak krátkou trasu musí být usnadněno přítomnými prekurzory, díky kterým se chloroform ve vodovodní vodě tvoří.

#### 4.3.5 Vodovodní voda - Nové Město na Moravě



Obr. 4.5: Mapa odběrových míst vodovodní vody - Žďársko.

Voda odebíraná z obce Nové Město na Moravě a jeho okolí pochází z úpraven vod Vír a Mostiště. I zde bylo možné pozorovat jakost vody v závislosti na vzdálenosti místa odběru od úpravní vody.

První odběr byl uskutečněn v obci Štěpánov (6A). Dále to byla obec Vír (6B), která provozuje úpravnu vody. Další vzorek byl z obce Bystřice nad Pernštejnem (6C), pak

z Dolní Rožínky (6D) a Nového Města na Moravě (6E). Tyto lokality jsou zásobovány vodou z úpravny vody Vír.

Tato úpravna odebírá vodu z nádrže Vír, která je vystavená na řece Svratce. Technologie úpravny vody Vír je jednostupňová koagulační filtrace. Pro předoxidaci je možné dávkovat ozon, dále je voda ztvrdována a hygienicky zabezpečena oxidem chloričitým, popřípadě chlorem. Za nejproblematictější ukazatele pokládá úpravna oxidovatelnost, mangan, zákal a biologické oživení [23].

Poslední odběr byl z obce Křížanov (6F), která je zásobovaná z úpravny vody v Mostišti. Tato úpravna odebírá vodu z vodní nádrže Mostiště vystavené na řece Oslavě. Na úpravně vody Mostiště je voda upravována ve dvou stupních – čiření síranem železitým s pískovou filtrací. Alkalizace se provádí vápenným mlékem a pro hygienické zabezpečení vody se dávkuje oxid chloričitý, popř. chlor [24].

Problémové ukazatele úpravny: fenoly jednosytné, adsorbovatelné org. halogeny (AOX), barva po filtraci, mangan, fosforečnany, chemická spotřeba kyslíku manganistanem, nasycení kyslíkem, amonné ionty, celkový organický uhlík (TOC) a huminové látky [24].

**Tab. 4.9: Výsledné hodnoty koncentrace TOL ve vodovodní vodě - Žďársko**

Měřené TOL ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	6A	6B	6C	6D	6E	6F
chloroform	14,58	1,37	1,42	1,30	10,66	10,15
benzen	3,85	6,46	1,11	1,00	5,93	0,39
1,2-dichlorpropan	0,18	0,10	0,18	0,11	0,00	0,17
bromdichlormethan	4,23	0,48	0,48	0,28	3,35	3,38
dibromchlormethan	2,21	0,36	0,24	0,30	1,34	1,04
ethylbenzen	0,00	0,09	0,18	0,13	0,02	0,00
bromoform	0,18	0,22	0,18	0,10	0,29	1,29

#### 4.3.6 Odpadní a povrchová voda - ČOV JE Dukovany

Další sledovanou lokalitou byla čistírna odpadních vod Jaderné elektrárny Dukovany. Vzorky byly odebrány celkem na čtyřech místech. Prvním místem odběru byl výstup z aktivační nádrže (7A). Do těchto nádrží přitéká splašková voda ze sociálních zařízení v elektrárně. Průtok těmito nádržemi je přibližně  $0,3 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ .

Další vzorek byl odebrán z vody přicházející do ČOV jako odluh z chladicích věží a při srážkách ještě spolu s dešťovou vodou z areálu (7B). Tato průmyslová voda přitéká přímo

do retenční nádrže rychlostí  $15\text{-}22\text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ . Objem jedné retenční nádrže je  $80\,000\text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ . Tato nádrž je průtoková a slouží pouze na zvýšení doby zdržení a sedimentaci případných nečistot. Doba zdržení je odhadovaná na 6 hodin.

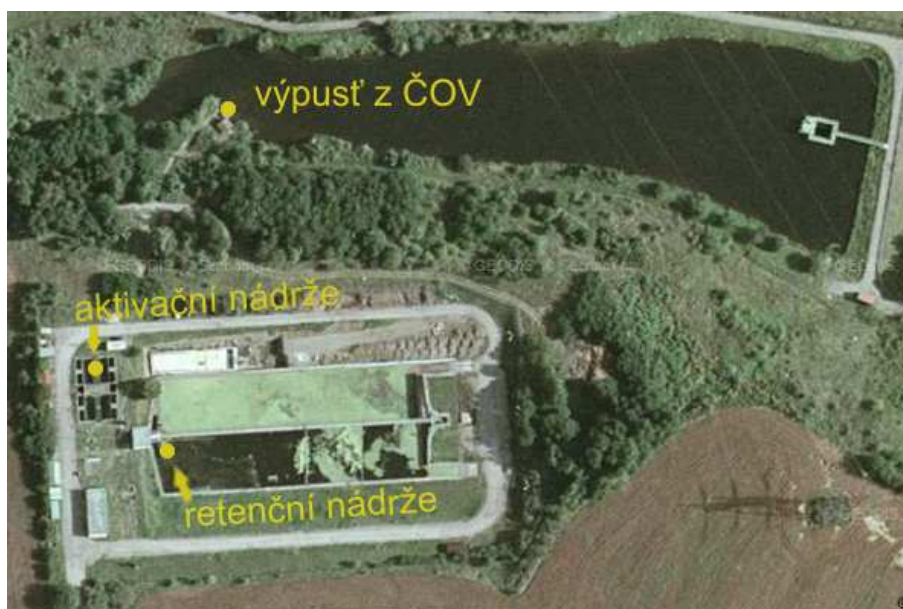
V aktuálně používané retenční nádrži byl odebrán třetí vzorek (7C). Místo odběru ukazuje fotografie (viz. přílohy). Poslední vzorek vzorek byl odebrán na výstupu z ČOV 7D.

Výsledné hodnoty, které ležely za mezí detekce jsou znázorněny v tab. 4.10.

**Tab. 4.10: Výsledné hodnoty koncentrace TOL v povrchové a odpadní vodě - Čistírna technických a odpadních vod Jaderné elektrárny Dukovany**

Měřené TOL ( $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ )	7A	7B	7C	7D
chloroform	0,25	0,00	0,00	0,00
benzen	3,93	5,78	3,25	3,34
toluen	0,27	0,06	0,00	0,10
tetrachlorethylen	0,00	0,53	0,22	0,09
1,3-dichlorbenzen	0,14	0,00	0,00	0,00
1,4-dichlorbenzen	0,14	0,01	0,01	0,01

Na přiloženém obrázku je možné vidět technologické uspořádání ČOV JE Dukovany. (Obrázek byl použit ze serveru [www.mapy.cz](http://www.mapy.cz)).



**Obr. 4.6: Letecký snímek areálu čistírny odpadních vod Jaderné elektrárny Dukovany.**

## 5 ZÁVĚR

Předmětem této práce bylo získat znalosti v oblasti výskytu a následně i stanovení těkavých organických látek v povrchové a pitné vodě. Byla vypracována literární rešerše zabývající se rozdělením těchto sloučenin dle chemického původu. Zkoumána byla i možná geneze volatilních látek přímo ve vodě jako produkt vedlejších reakcí při hygienickém zabezpečení surové vody na vodu pitnou.

Součástí teoretické části byly sepsány možné separační metody, kterými je možné dané sloučeniny izolovat. Vyzdvižena byla možnost předseparační techniky známé jako head-space spolu s mikroextrakcí na tuhé fázi (head-space SPME). Ve spojení s analytickou koncovkou v podobě plynového chromatografu spojeného s hmotnostně selektivním detektorem se jednalo o vysoce citlivou metodu, kterou byly těkavé látky analyzovány. Mikroextrakce probíhala vždy na vlákne s vrstvou 100  $\mu\text{m}$  polydimethylsiloxanu, separace v kapilární koloně se speciální náplní upravené pro těkavé látky a detekce v hmotnostním spektrometru pomocí elektronásobiče.

Po získání dostatečného množství informací se přistoupilo k experimentům. Podmínky kalibrace a následně měření reálných vzorků byly nastaveny dle doporučení standardního operačního postupu VÚV Brno. Některé podmínky byly experimentálně ověřeny.

Po všech nezbytných krocích byly analyzovány reálné vzorky vody z vytipovaných lokalit. Koncentrace těkavých látek ve vzorcích vody nebyly v žádné lokalitě naměřeny nad mezní hodnotu doporučenou Ministerstvem zdravotnictví dle vyhlášky č. 252/2004 Sb..

Příprava vzorků pomocí metody head space SPME je rychlá, pohodlná a velmi účinná. Pro sorpci těkavých látek, kde lze využít právě tenze par analytu, je jednoznačně vhodná právě technika head space. Při dodržení všech podmínek pro přípravu a pak samotnou analýzu vzorků je to metoda dostatečně selektivní a vhodná pro stanovování těkavých organických látek ve vzorcích vody.

# SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] PITTER, P.: *Hydrochemie*, 3. vyd. Praha: VŠCHT, 1999, 568 s., ISBN 80-03-00525-6.
- [2] POPL M., FÄHNRIK J.: *Analytická chemie životního prostředí*, 4. přeprac. vyd. Praha : VŠCHT, 1999. 218 s. ISBN 80-7080-336-3.
- [3] KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*, 1. vyd. Ostrava 1996, 204 s. ISBN 80-902155-0-5.
- [4] ČSN 75 7550: 1991. Jakost vod. Stanovení trihalogenmethanu. Praha: Český normalizační institut 1991. 16 s.
- [5] ČSN EN ISO 10301: 1998. Jakost vod. Stanovení vysoce těkavých halogenovaných uhlovodíků - Metody plynové chromatografie. Praha: Český normalizační institut 1998. 40 s.
- [6] ŽÁČEK L.: *Chemické a technologické procesy úpravy vod*, 1. vyd. Brno: NOEL 2000 s.r.o., 1999. 239 s. ISBN 80-86020-22-2.
- [7] SOLOMONS, T. W. Graham, FRYHLE, Craig B.: *Organic Chemistry*, 8th edition. [s.l.]: WILEY, 2004. 1344 s. ISBN 978-0-471-41799-6.
- [8] ČERVINKA, Otakar, DĚDEK, Václav, FERLES, Miloslav.: *Organická chemie*, 2. přeprac. vyd. Praha : SNTL, 1982. 759 s. ISBN 80-85427-03-6.
- [9] KOLÁŘ, K.: *Využití SPME pro vzorkování polyaromátu z ovzduší*, Brno, 2001. 66 s. FCH VUT. Vedoucí diplomové práce Miroslav Ciganek.
- [10] *Labicom s.r.o., laboratorní přístroje a příslušenství* [online]. 2004 [cit. 2008-02-23]. Český. Dostupný z WWW: <[www.labicom.cz](http://www.labicom.cz)>.
- [11] SIGMA-ALDRICH: *Solid phase microextraction SPME, sample preparation* [online]. 2008 [cit. 2008-02-23]. Dostupný z WWW: <[http://www.sigmaaldrich.com/Brands/Supelco\\_Home/Spotlights/SPME\\_central.html](http://www.sigmaaldrich.com/Brands/Supelco_Home/Spotlights/SPME_central.html)>.
- [12] *Scientific Instrument Services, Inc.* [online]. 2007 [cit. 2008-02-23]. Dostupný z WWW: <[www.sisweb.com](http://www.sisweb.com)>.
- [13] *Brechbühler scientific analytical solutions, Inc.* [online]. 2008 [cit. 2008-03-02]. Dostupný z WWW: <[www.brechbuehler.com](http://www.brechbuehler.com)>.
- [14] *University of Tübingen - Faculty of Chemistry* [online]. 2003 [cit. 2008-03-02]. Dostupný z WWW: <[www.ipc.uni-tuebingen.de](http://www.ipc.uni-tuebingen.de)>.
- [15] ČSN ISO 8466-1: 1994. Jakost vod. Kalibrace a hodnocení analytických metod a určení jejich charakteristik. Praha: Český normalizační institut 1993. 16 s.

- [16] ECKSCHLAGER K., HORSÁK I., KODEJŠ Z.: *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*, 1. vyd. Praha: SNTL, 1980, 223 s. ISBN 04-610-80.
- [17] RICHARD C. GRAHAM: *Data analysis for the chemical science*, 1<sup>st</sup> ed. New York: VCH Publishers, Inc., 1993. 536 p. ISBN 1-56081-048-3.
- [18] ČSN 757221: 1998. Jakost vod – Klasifikace jakosti povrchových vod. Praha: Český normalizační institut 1998. 9 s.
- [19] Vyhláška č. 252/2004 Sb.: 2004. Hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. Ministerstvo zdravotnictví České republiky, 2004. 15 s.
- [20] PAWLISZYN, Janus: *Solid Phase Microextraction : Theory and practice*. 1st edition. [s.l.] : Wiley-VCH, Inc., 1997. 247 s. ISBN 0-471-19034-9.
- [21] LOMPART M., LI K., FINGAS M.: *Headspace solid-phase microextraction for determination of volatile and semi-volatile pollutants in water and air* Journal of chromatography A, 1998, 824 s.
- [22] SUPELCO: *SPME, Theory and optimalization of conditions*, Bulletin T394011 C, (1998), Sigma-Aldrich Co.
- [23] POVODÍ MORAVY, S.P. BRNO. Ministerstvo zemědělství: *Plán pro zlepšování jakosti surové povrchové vody odebírané za účelem úpravy na vodu pitnou pro odběrový profil Vír* [online]. 2005 , 2005 [cit. 2008-05-07]. Dostupný z WWW: <[http://www.mze.cz/attachments/Plan\\_Vir\\_2005.pdf](http://www.mze.cz/attachments/Plan_Vir_2005.pdf)>.
- [24] POVODÍ MORAVY, S.P. BRNO. Ministerstvo zemědělství: *Plán pro zlepšování jakosti surové povrchové vody odebírané za účelem úpravy na vodu pitnou pro odběrový profil Mostiště* [online]. 2005 , 2005 [cit. 2008-05-07]. Dostupný z WWW: <[http://www.mze.cz/attachments/Plan\\_Mostište\\_2005.pdf](http://www.mze.cz/attachments/Plan_Mostište_2005.pdf)>.
- [25] MILLER, James N., MILLER, Jane C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 5th edition. [s.l.] : PEARSON, 2005. 268 s. ISBN 0-131-29192-0.
- [26] ChemStation v. B.01.01 - Manuál k obsluze softwaru. Olomouc (CZ): Labicom s.r.o., 2001.
- [27] *Agilent Technologies : Life Sciences/Chemical Analysis [online]*. USA: 2000 [cit. 2008-05-09]. Dostupný z WWW: <<http://www.chem.agilent.com/scripts/PHome.asp>>.



# SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

## Zkratky

TOL	těkavé organické látky
SPME	solid phase micro extraction
SPE	solid phase extraction
GC	plynový chromatograf (gas chromatograph)
MS	hmotnostní spektrometr (mass spectrometer)
EDTA	ethylendiamin-tetraoctová kyselina
THM	trihalogenmethan
PCB	polychlorované bifenyly
PAU	polycyklické aromatické uhlovodíky
PDMS	polydimethylsiloxan
DVB	divinylbenzen
PA	polyakrylát
CAR	carboxen
CW	carbowax
NTA	Nitrilotrioctová kyselina (Chelaton 1)
DMIS	dolní mez intervalu spolehlivosti
HMIS	horní mez intervalu spolehlivosti
DLM	detekční limit metody
MS	Mez Stanovitelnosti
IS	Vnitřní Standard
SIM	Single Ion Mode

## Symboly

$\mu$	parametr normálního rozdělení pravděpodobnosti
$\bar{x}$	hodnota průměru kalibračních koncentrací $x_i$
$\hat{x}$	koncentrace stanovovaného ukazatele ve vzorku vypočtená z hodnoty průměru naměřených (informačních) hodnot $\hat{y}$
$\bar{y}$	hodnota průměru informačních hodnot $y_i$
$\hat{y}$	průměr naměřených (informačních) hodnot vyplývající z $n$ opakování
$\alpha$	hladina statistické významnosti
$L_1, L_2$	meze intervalu spolehlivosti
$\xi$	skutečná hodnota
$v$	počet stupňů volnosti
$n$	počet naměřených výsledků

$m$	počet opakování na stejném analyzovaném vzorku
$s$	směrodatná odchylka
$t$	Studentův test
$t_{\alpha,v}$	kritická hodnota Studentova rozdělení
$X_D^\alpha$	detekční limit metody pro chybu prvního druhu
$s_{X0}$	směrodatná odchylka metody
$v_{X0}$	variační koeficient metody
$s_y$	hodnota reziduální směrodatné odchylky
$\delta$	delta
$P_i^*$	je korigovaná hodnota odezvy přístroje na analyt
$P_i$	nekorigovaná hodnota odezvy přístroje na analyt
$P_{IS}$	je hodnota odezvy příslušného vnitřního standardu
$P_{IS}^{pr.}$	je průměr hodnot odezvy vnitř. standardu z každého bodu kalibrace

# SEZNAMY OBRÁZKŮ, GRAFŮ A TABULEK

## Seznam obrázků

2.1	Bazicky katalyzovaná halogenace ketonů . . . . .	13
2.2	Haloformová reakce - štěpení uhlíkové vazby . . . . .	14
2.3	Přeměny aromátů . . . . .	18
2.4	Extrakce těkavých kontaminantů plynem (technika Purge and trap) [12] . . . . .	20
2.5	Různé způsoby průchodu kapaliny extrakční kolonkou [3] . . . . .	22
2.6	Jednotlivé kroky při extrakci [3] . . . . .	23
2.7	Schéma head-space techniky [14] . . . . .	24
2.8	Aplikace vzorku pomocí SPME [13] . . . . .	26
2.9	Schéma extrakčních mechanismů - počátek sorpce [11] . . . . .	31
2.10	Schéma extrakčních mechanismů - rovnovážný stav [11] . . . . .	32
2.11	Vlákno CAR <sup>TM</sup> /PDMS . . . . .	34
2.12	Schema kombi. SPME vlákna DVB-PDMS přes vrstvu CAR <sup>TM</sup> -PDMS . . . . .	35
3.1	Používaný plynový chromatograf . . . . .	40
3.2	Vzorkovací vialky (vlevo), automatický dávkovač Combi PAL (vpravo) . . . . .	41
3.3	Ukázka odběru vzorků - potok Ponávka . . . . .	42
4.1	Mapa odběrových míst povrchové vody na řece Svitavě, Svatce a na jejich soutoku. . . . .	54
4.2	Mapa odběrových míst povrchové vody na potoku Ponávka. . . . .	55
4.3	Mapa odběrových míst vodovodní vody v lokalitě Brno - město. . . . .	56
4.4	Mapa odběrových míst vodovodní vody - Třebíčsko. . . . .	57
4.5	Mapa odběrových míst vodovodní vody - Žďársko. . . . .	58
4.6	Letecký snímek areálu čistírny odpadních vod Jaderné elektrárny Dukovany. . . . .	60
P.1	Výsledný chromatogram těkavých organických látek (50 $\mu\text{g}/\text{l}$ TOL, MS detektor, 100 $\mu\text{m}$ PDMS vlákno, nástřík split/splitless). . . . .	72
P.2	Odběrová místa povrchové vody - potok Ponávka (3A-3C) . . . . .	73
P.3	Odběrová místa povrchové vody - potok Ponávka (3D-3F) . . . . .	74
P.4	Odběrová místa povrchové vody - Čistírna odpadních vod Jaderné elektrárny Dukovany (7B-7D) . . . . .	75
P.5	Schematický náčrt rozhraní (interface) mezi plynovým chromatografem a hmotnostním spektrometrem [27]. . . . .	76
P.6	Používaný elektronásobič pro hmotnostně selektivní detektor [27]. . . . .	76

## Seznam tabulek

2.1	Koncentrace některých organických chlorderivátů v pitné vodě v ČR v roce 1996. Údaje jsou v $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . . . . .	11
2.2	Koncentrace aromatických uhlovodíků v $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ v labské vodě v roce 1995 (Projekt Labe) . . . . .	16

2.3	Příklady prahových koncentrací pachu (A), prahových koncentrací chuti (B) a doporučených limitů pro pitnou vodu za zdravotního hlediska (US EPA) (C). Koncentrace jsou $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . . . . .	17
2.4	Přehled dodávaných SPME vláken . . . . .	30
2.5	Přehled mechanismů extrakce u jednotlivých typů SPME vláken . . . . .	31
2.6	Fyzikálně chemické vlastnosti SPME vláken . . . . .	33
4.1	Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah $1-5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . BEZ interní standardizace . . . . .	51
4.2	Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah $1-5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . S interní standardizací . . . . .	51
4.3	Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah $5-40 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . BEZ interní standardizace . . . . .	52
4.4	Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah $5-40 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . S interní standardizací . . . . .	52
4.5	Výsledné hodnoty koncentrace TOL v povrchové vodě - Svitava, Svatka . . . . .	54
4.6	Výsledné hodnoty koncentrace TOL v povrchové vodě - Ponávka . . . . .	55
4.7	Výsledné hodnoty koncentrace TOL ve vodovodní vodě - Brno město . . . . .	56
4.8	Výsledné hodnoty koncentrace TOL ve vodovodní vodě - Třebíčsko . . . . .	57
4.9	Výsledné hodnoty koncentrace TOL ve vodovodní vodě - Žďársko . . . . .	59
4.10	Výsledné hodnoty koncentrace TOL v povrchové a odpadní vodě - Čistírna technických a odpadních vod Jaderné elektrárny Dukovany . . . . .	60
P.1	Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah $1-5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . BEZ korekce na vnitřní standard . . . . .	68
P.2	Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah $1-5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . S korekcí na vnitřní standard . . . . .	69
P.3	Přehled sloučenin a jejich retenčních časů . . . . .	70

## Seznam grafů

3.1	Stanovení 1,2,3-trichlorpropanu - kalibrační závislost s intervalem spolehlivosti . . . . .	45
4.1	Chloroform - kalibrační závislost s intervalem spolehlivosti (s interní standardizací) . . . . .	49
4.2	Kalibrace chloroformu - detekční limity a mez stanovitelnosti (s interní standardizací) . . . . .	50
4.3	Závislost množství chloroformu na čase . . . . .	53
4.4	Závislost nasorbovaného množství chloroformu na teplotě . . . . .	53

# PŘÍLOHY

Tab. P.1: Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah 1-5  $\mu\text{g.l}^{-1}$ .  
BEZ korekce na vnitřní standard

č.	Sloučenina	Pracovní rozsah 1-5 $\mu\text{g.l}^{-1}$			
		Linearita	DLM Graham	DLM Miller	MS Miller
		$R^2$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$
1	bromchlormethan	0,9808	0,49	0,66	2,21
2	chloroform	0,9907	0,35	0,46	1,53
3	tetrachlormethan	0,9866	0,41	0,55	1,85
4	benzen	0,9862	0,41	0,56	1,94
5	1,2-dichlorpropan	0,9927	0,31	0,41	1,36
6	trichlorethylen	0,9915	0,33	0,44	1,46
7	bromdichlormethan	0,9852	0,43	0,58	1,94
8	toluen	0,9617	0,68	0,95	3,16
9	dibromchlormethan	0,9918	0,33	0,43	1,44
10	tetrachlorethylen	0,9865	0,41	0,56	1,85
11	1,1,1,2-tetrachlorethan	0,9877	0,40	0,53	1,77
12	chlorbenzen	0,9813	0,48	0,66	2,18
13	ethylbenzen	0,9805	0,49	0,67	2,23
14	m,p-Xylen	0,9873	0,40	0,54	1,80
15	bromoform	0,9802	0,50	0,67	2,25
16	styren	0,9802	0,50	0,67	2,25
17	o-Xylen	0,9801	0,50	0,68	2,25
18	1,2,3-trichlorpropan	0,9852	0,43	0,58	1,94
19	brombenzen	0,9847	0,44	0,59	1,97
20	1,3-dichlorbenzen	0,9820	0,47	0,64	2,14
21	1,4-dichlorbenzen	0,9823	0,47	0,64	2,13
22	1,2-dichlorbenzen	0,9842	0,44	0,60	2,00
23	naftalen	0,9920	0,32	0,43	1,42

Tab. P.2: Přehled validačních parametrů měřených TOL - prac. rozsah 1-5  $\mu\text{g.l}^{-1}$ .  
S korekcí na vnitřní standard

č.	Sloučenina	Pracovní rozsah 1-5 $\mu\text{g.l}^{-1}$			
		Linearita	DLM Graham	DLM Miller	MS Miller
		$R^2$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$	$\mu\text{g.l}^{-1}$
1	bromchlormethan	0,9925	0,31	0,41	1,38
2	chloroform	0,9917	0,17	0,23	0,75
3	tetrachlormethan	0,9896	0,36	0,49	1,62
4	benzen	0,9901	0,32	0,43	1,65
5	1,2-dichlorpropan	0,9974	0,19	0,24	0,81
6	trichlorethylen	0,9974	0,19	0,24	0,80
7	bromdichlormethan	0,9946	0,27	0,35	1,17
8	toluen	0,9933	0,30	0,39	1,30
9	dibromchlormethan	0,9958	0,24	0,31	1,03
10	tetrachlorethylen	0,9918	0,32	0,43	1,44
11	1,1,1,2-tetrachlorethan	0,9961	0,23	0,30	0,99
12	chlorbenzen	0,9936	0,29	0,38	1,27
13	ethylbenzen	0,9930	0,30	0,40	1,33
14	m,p-Xylen	0,9943	0,27	0,36	1,20
15	bromoform	0,9922	0,32	0,42	1,40
16	styren	0,9927	0,31	0,41	1,36
17	o-Xylen	0,9937	0,29	0,38	1,26
18	1,2,3-trichlorpropan	0,9903	0,35	0,47	1,57
19	brombenzen	0,9945	0,27	0,35	1,18
20	1,3-dichlorbenzen	0,9931	0,30	0,40	1,32
21	1,4-dichlorbenzen	0,9926	0,31	0,41	1,36
22	1,2-dichlorbenzen	0,9931	0,30	0,40	1,32
23	naftalen	0,9950	0,25	0,34	1,11

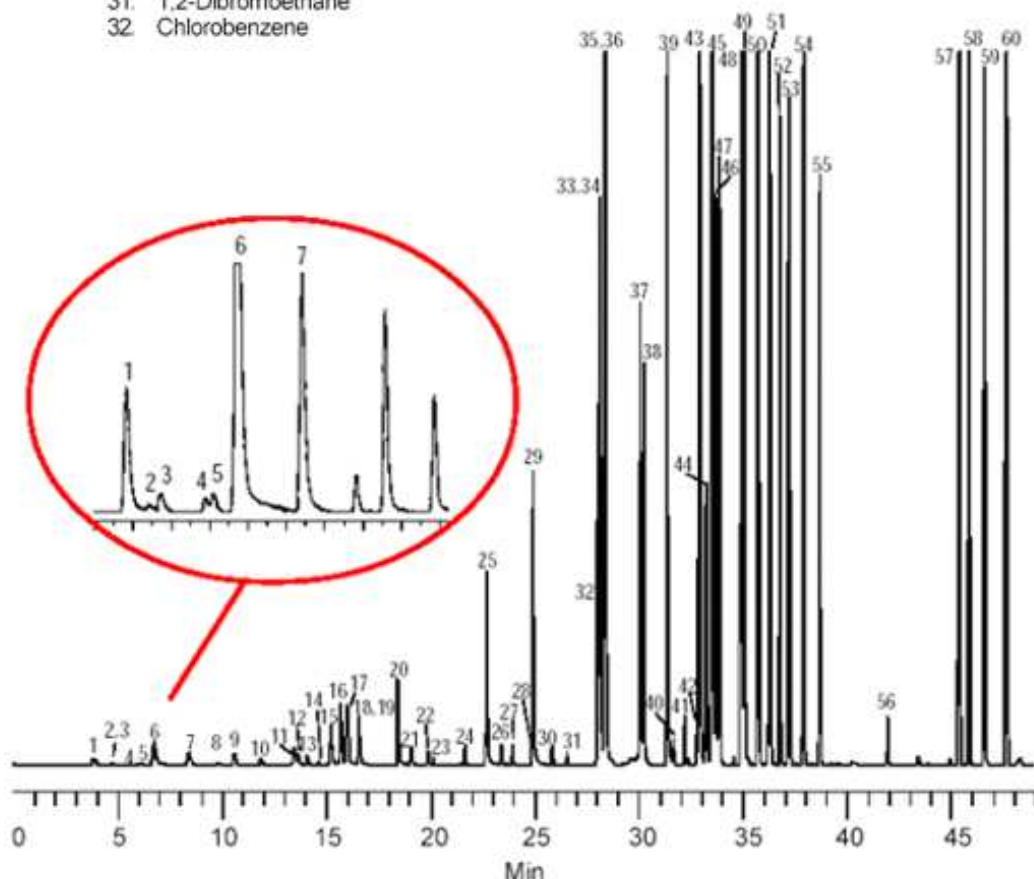
**Tab. P.3: Přehled sloučenin a jejich retenčních časů**

č.	Sloučenina	Ret. čas	č.	Sloučenina	Ret. čas
1	bromchlormethan	11,68	13	ethylbenzen	25,77
2	chloroform	11,79	14	m,p-Xylen	26,46
3	tetrachlormethan	14,48	15	bromoform	26,63
4	benzen	14,59	16	styren	27,57
5	1,2-dichlorpropan	16,16	17	o-Xylen	27,81
6	trichlorethylen	16,29	18	1,2,3-trichlorpropan	28,29
7	bromdichlormethan	16,40	19	brombenzen	29,84
8	toluen	20,55	20	1,3-dichlorbenzen	33,78
9	dibromchlormethan	21,46	21	1,4-dichlorbenzen	34,04
10	tetrachlorethylen	22,81	22	1,2-dichlorbenzen	35,32
11	1,1,1,2-tetrachlorethan	24,78	23	naftalen	43,15
12	chlorbenzen	25,02			

	<b>Zastoupené organické sloučeniny</b>		
<b>Trihalogenmethany</b>	chloroform bromdichlormethan	dibromchlormethan bromoform	dichlormethan tetrachlormethan
<b>Ethyleny</b>	1,1-dichlorethylen trans-1,2-dichlorethylen	cis-1,2-dichlorethylen trichlorethylen	tetrachlorethylen
<b>Ethany</b>	1,1,1,2-tetrachlorethan 1,1,2,2-tetrachlorethan 1,1,2-trichlorethan	1,2-dibrommethan 1,2-dichlorethan 1,1,1-trichlorethan	1,1-dichlorethan
<b>Propany</b>	1,2,3-trichlorpropan 1,2-dibrom-3-chlorpropan	1,2-dichlorpropan 1,3-dichlorpropan	1,1-dichlorpropan 2,2-dichlorpropan
<b>Alkyl-aromáty</b>	benzen toluen ethylbenzen m,p-xylen styren	o-xylen isopropylbenzen n-propylbenzen 1,3,5-trimethylbenzen 1,2,4-trimethylbenzen	tert-butylbenzen sec-butylbenzen p-isopropyltoluen n-butylbenzen naftalen
<b>Chlor-aromáty</b>	chlorbenzen brombenzen 2-chlortoluen 4-chlortoluen	1,2,4,5-tetrachlorbenzen 1,2-dichlorbenzen 1,3-dichlorbenzen 1,4-dichlorbenzen	1-chlornaftalen 1,3,5-trichlorbenzen 1,2,4-trichlorbenzen 1,2,3-trichlorbenzen



- |                               |                                 |
|-------------------------------|---------------------------------|
| 1. Dichlorodifluoromethane    | 33. 1,1,1,2-Tetrachloroethane   |
| 2. Chloromethane              | 34. Ethylbenzene                |
| 3. Vinyl chloride             | 35. m-Xylene                    |
| 4. Bromomethane               | 36. p-Xylene                    |
| 5. Chloroethane               | 37. o-Xylene                    |
| 6. Trichlorofluoromethane     | 38. Styrene                     |
| 7. 1,1-Dichloroethylene       | 39. Isopropylbenzene            |
| 8. Methylene chloride         | 40. Bromoform                   |
| 9. trans-1,2-Dichloroethylene | 41. 1,1,2,2-Tetrachloroethane   |
| 10. 1,1,-Dichloroethane       | 42. 1,2,3-Trichloropropane      |
| 11. 2,2-Dichloropropane       | 43. n-Propylbenzene             |
| 12. cis-1,2-Dichloroethylene  | 44. Bromobenzene                |
| 13. Chloroform                | 45. 1,3,5-Trimethylbenzene      |
| 14. Bromochloromethane        | 46. 2-Chlorotoluene             |
| 15. 1,1,1-Trichloroethane     | 47. 4-Chlorotoluene             |
| 16. 1,1-Dichloropropene       | 48. tert-Butylbenzene           |
| 17. Carbon tetrachloride      | 49. 1,2,4-Trimethylbenzene      |
| 18. 1,2-Dichloroethane        | 50. sec-Butylbenzene            |
| 19. Benzene                   | 51. p-Isopropyltoluene          |
| 20. Trichloroethylene         | 52. 1,3-Dichlorobenzene         |
| 21. 1,2-Dichloropropane       | 53. 1,4-Dichlorobenzene         |
| 22. Bromodichloromethane      | 54. n-Butylbenzene              |
| 23. Dibromomethane            | 55. 1,2-Dichlorobenzene         |
| 24. cis-1,3-Dichloropropene   | 56. 1,2-Dibromo-3-chloropropane |
| 25. Toluene                   | 57. 1,2,4-Trichlorobenzene      |
| 26. trans-1,3-Dichloropropene | 58. Hexachlorobutadiene         |
| 27. 1,1,2-Trichloroethane     | 59. Naphthalene                 |
| 28. 1,3-Dichloropropane       | 60. 1,2,3-Trichlorobenzene      |
| 29. Tetrachloroethylene       |                                 |
| 30. Dibromochloromethane      |                                 |
| 31. 1,2-Dibromoethane         |                                 |
| 32. Chlorobenzene             |                                 |



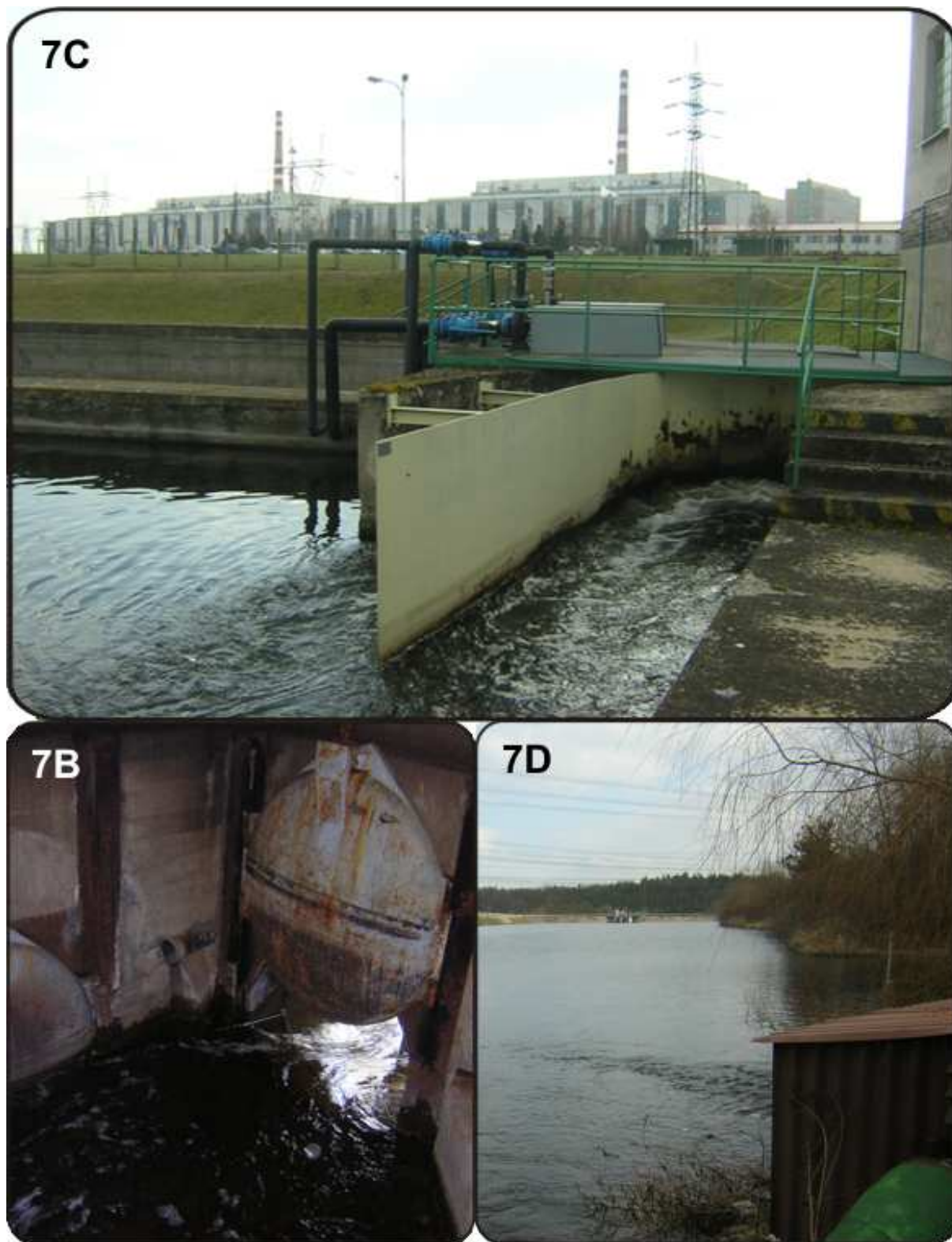
Obr. P.1: Výsledný chromatogram těkavých organických látek (50  $\mu\text{g}/\text{l}$  TOL, MS detektor, 100  $\mu\text{m}$  PDMS vlákno, nástřík split/splitless).



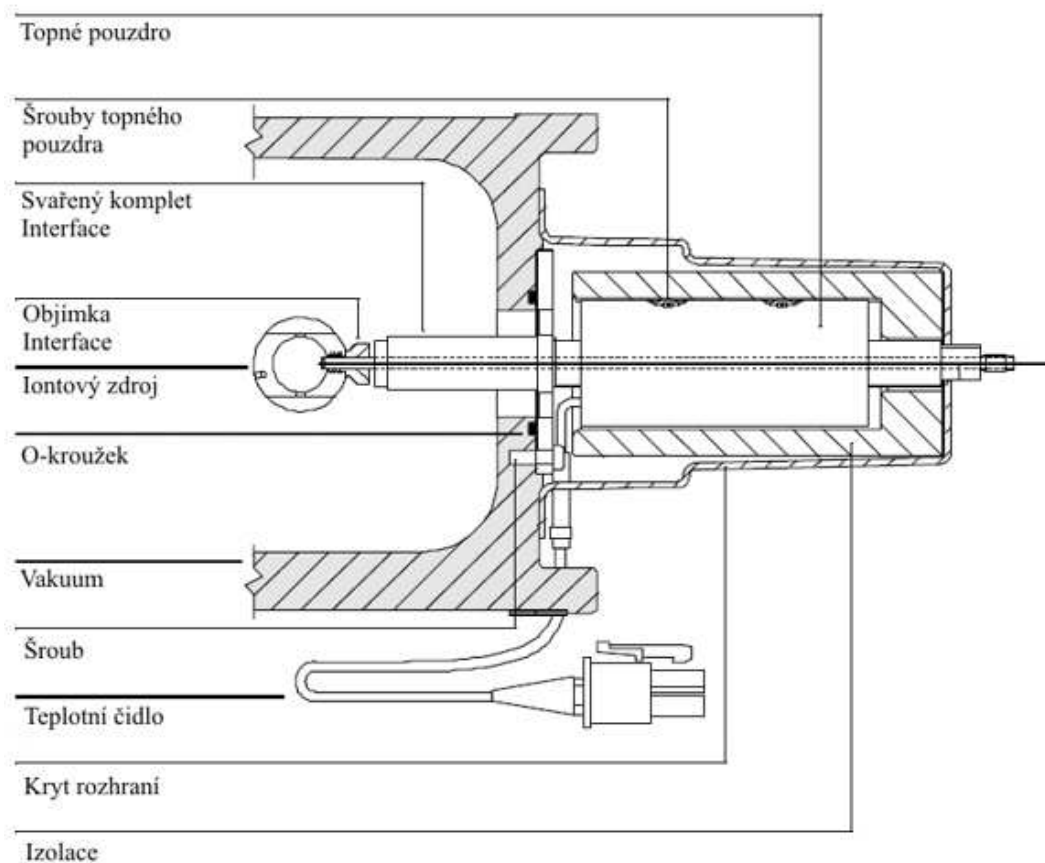
Obr. P.2: Odběrová místa povrchové vody - potok Ponávka (3A-3C)



Obr. P.3: Odběrová místa povrchové vody - potok Ponávka (3D-3F)



Obr. P.4: Odběrová místa povrchové vody - Čistírna odpadních vod Jaderné elektrárny Dukovany (7B-7D)



Obr. P.5: Schematický náčrt rozhraní (interface) mezi plynovým chromatografem a hmotnostním spektrometrem [27].



### Electron Multiplier For 5973 MSD



Obr. P.6: Používaný elektronásobič pro hmotnostně selektivní detektor [27].