



# Studium distribuce organochlorovaných pesticidů v archivované biomase stromů z kontaminované lokality

## Bakalářská práce

*Studijní program:*

B1407 Chemie

*Studijní obory:*

Chemie se zaměřením na vzdělávání

Informatika se zaměřením na vzdělávání

*Autor práce:*

**Martin Louda**

*Vedoucí práce:*

Mgr. Pavel Hrabák, Ph.D.

Ústav nových technologií a aplikované informatiky

*Konzultant práce:*

Ing. Vojtěch Antoš

Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace





## Zadání bakalářské práce

# Studium distribuce organochlorovaných pesticidů v archivované biomase stromů z kontaminované lokality

*Jméno a příjmení:* **Martin Louda**  
*Osobní číslo:* P17000293  
*Studijní program:* B1407 Chemie  
*Studijní obory:* Chemie se zaměřením na vzdělávání  
Informatika se zaměřením na vzdělávání  
*Zadávající katedra:* Katedra chemie  
*Akademický rok:* 2019/2020

### Zásady pro vypracování:

1. Student se seznámí s extrakčním postupem pro organochlorované pesticidy (mezi něž patří hexachlorocyklohexany – HCH) z dřevní biomasy a naučí se jej rutině provádět.
2. Z archivovaných řezů stromů provede student věkově a směrově závislé odběry vzorků biomasy a zdokumentuje je.
3. Dále student stanoví sušinu zpracovávaných vzorků a provede jejich extrakci.
4. Od konzultanta student obdrží výsledky stanovení organochlorovaných pesticidů na GC-MSMS, které graficky zpracuje a vyhodnotí dendrochronologickou distribuci pesticidů včetně směrové závislosti.

Práce ukáže distribuci organochlorovaných pesticidů (HCH) v přízemních řezech kmeny stromů na lokalitě zatížené skládkovými průsaky HCH. Přispěje tak k pochopení fytoextrakční funkce dřevin (osik, bříz a olší), zejména pak k rozlišení sorpčních schopností různých věkových kategorií dřeva, k pochopení mezidruhových rozdílů v příjmu HCH dřevinou a k vyjasnění směrové závislosti příjmu HCH dřevinami.

*Rozsah grafických prací:* dle potřeby  
*Rozsah pracovní zprávy:* 30-50 stran  
*Forma zpracování práce:* tištěná  
*Jazyk práce:* Čeština



### **Seznam odborné literatury:**

1. Pawliszyn, Janusz. 2011. Handbook of Solid Phase Microextraction. Elsevier.
2. Derouiche, Abdelkader, Mohamed Ridha Driss, Jean-Pierre Morizur, a Marie-Hélène Taphanel. 2007. Simultaneous analysis of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in water by headspace solid-phase microextraction with gas chromatography tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1138 (1-2): 231-43. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.064>.
3. Bagheri, Habib, Ali Aghakhani, Masoud Baghernejad, a Alireza Akbarinejad. 2012. Novel polyamide-based nanofibers prepared by electrospinning technique for headspace solid-phase microextraction of phenol and chlorophenols from environmental samples. Analytica Chimica Acta, A selection of papers presented at the 12th International Symposium on Extraction Technologies (ExTech 2010), 716: 34-39. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.03.016>.

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

*Konzultant práce:* Ing. Vojtěch Antoš  
Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace

*Datum zadání práce:* 20. dubna 2020  
*Předpokládaný termín odevzdání:* 6. května 2021

prof. RNDr. Jan Pícek, CSc.  
děkan

L.S.

prof. Ing. Josef Šedlbauer, Ph.D.  
vedoucí katedry

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Jsem si vědom toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědom následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

26. dubna 2021

Martin Louda

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu mé bakalářské práce Mgr. Pavlu Hrabákovi, Ph.D a také konzultantovi Ing. Vojtěchu Antošovi, Ph.D. za odborné vedení, podporu, cenné rady, a především za trpělivost a ochotu, které mi pomohly tuto práci napsat.

# Abstrakt

Bakalářská práce je zaměřena na studium distribuce organochlorovaných pesticidů ve dvou typech dřevní biomasy. Konkrétně se jednalo o pesticid hexachlorcyklohexan – HCH (včetně jeho izomerů) a dřeviny olše lepkavé a břízy bělokoré.

Praktická část je zaměřena na zkoumání distribuce hexachlorcyklohexanu při použití metody experimentálního výzkumu. Pro toto studium byly provedeny odběry z těchto dvou zkoumaných dřevin za pomoci dvou extrakčních metod, extrakce organickými rozpouštědly a metodou SPME. Takto připravené vzorky byly poté zpracovány plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometrem (GC/MSMS).

Na základě výsledků provedených analýz biomas dvou dřevin, olše lepkavé a břízy bělokoré, byla prokázána přítomnost organochlorovaného pesticidu – HCH v obou těchto dřevinách. Analýzou získaných experimentálních dat a jejím zhodnocením byla zjištěna rozdílná distribuce hexachlorcyklohexanu u zkoumaných dřevin. Provedený výzkum tak prokázal rozdílnost chování HCH mezi danými dřevinami a také vhodnost těchto dřevin pro phytoscreening v případě tohoto pesticidu.

## Klíčová slova

Hexachlorcyklohexan, extrakce kapaliny kapalinou, mikroextrakce tuhou fází, organochlorované pesticidy, persistentní organické látky, olše lepkavá, bříza bělokorá, phytoscreening.

## **Abstract**

This bachelor thesis studies distribution of organochlorinated pesticides in two types of researched biomass. The studied pesticide is called hexachlorocyclohexane – HCH (his isomers are also included in the study) and trees common alder and silver birch.

The experimental part focuses on learning about distribution of hexachlorocyclohexane using experimental research method. To learn about this distribution, samples were taken from the two researched biomasses. These samples were prepared using two extraction methods, SPME and extraction by organic solvents. Samples prepared in this way were then processed by gas chromatography with mass spectrometer (GC/MSMS).

On the basis of results done by the analysis, presence of organochlorinated pesticide – HCH was proven in both researched trees. By evaluating the results of analysis, different distribution of hexachlorocyclohexane in the two trees was found. This research proved different behaviour of HCH between the trees and also proved that these trees can be used for phytoscreening.

## **Keywords**

Hexachlorocyclohexane, Liquid-liquid extraction, Solid phase micro extraction, organochlorine pesticides, persistent organic pollutants, *Alnus glutinosa*, *Betula pendula*, phytoscreening.

# Obsah

Seznam obrázků .....	10
Seznam tabulek .....	11
Seznam symbolů a zkratk.....	12
1 Úvod.....	13
2 Cíle.....	14
3 Teoretická část .....	15
3.1 Hexachloreklohexan HCH .....	16
3.1.1 Izomery HCH.....	16
3.1.2 Toxicita a perzistence.....	20
3.1.3 Historie globálně .....	23
3.1.4 Historie v ČR.....	23
3.2 Zkoumané dřeviny .....	26
3.2.1 Bříza bělokorá.....	26
3.2.2 Olše lepkavá.....	26
3.2.3 Růst dřevin a letokruhy .....	27
3.3 Phytoscreening.....	28
3.4 Příprava vzorku .....	29
3.4.1 Metoda LLE .....	29
3.4.2 Metoda SPME .....	30
3.5 Chromatografie .....	35
3.5.1 Plynová chromatografie .....	35
3.6 Hmotnostní spektrometrie.....	36
4 Praktická část .....	39
4.1 Použité Chemikálie .....	40
4.2 Použité Přístroje .....	40
4.3 Metodika .....	41
4.4 Výsledky .....	45



4.4.1	Výsledky olše lepkavé.....	45
4.4.2	Výsledky břízy bělokoré .....	49
4.4.3	Porovnání výsledků dřevin.....	53
4.4.4	Porovnání výsledků metod LLE a SPME .....	55
5	Závěr .....	57
6	Zdroje .....	59

## Seznam obrázků

Obrázek 1 Konfigurační vzorec $\alpha$ -HCH [9].....	17
Obrázek 2 Axiální a ekvatoriální polohy chlorů u dvou různých enantiomerů $\alpha$ -HCH [10].....	17
Obrázek 3 Konfigurační vzorec $\beta$ -HCH [9].....	18
Obrázek 4 Axiální polohy atomů chloru v axiálních polohách $\beta$ -HCH [10] .....	18
Obrázek 5 Konfigurační vzorec $\gamma$ -HCH [9] .....	19
Obrázek 6 Ekvatoriální a axiální polohy atomů chloru $\gamma$ -HCH [10] .....	19
Obrázek 7 Konfigurační vzorec $\delta$ -HCH [9].....	20
Obrázek 8 Ekvatoriální a axiální polohy atomů chloru $\delta$ -HCH [11] .....	20
Obrázek 9 Lokalita lomu Hájek [34] .....	24
Obrázek 10 Poloha olše lepkavé a břízy bělokoré v lomu Hájek [34].....	25
Obrázek 11 Bříza bělokorá [37].....	26
Obrázek 12 Olše lepkavá [40].....	27
Obrázek 13 Princip LLE [48].....	30
Obrázek 14 Schéma SPME vlákna pro manuální použití [47].....	31
Obrázek 15 Zařízení SPME [51].....	31
Obrázek 16 Postup při HS-SPME [54] .....	32
Obrázek 17 Postup při DI-SPME [54] .....	32
Obrázek 18 Hmotnostní spektrometr [66].....	37
Obrázek 19 Zpracování břízy bělokoré.....	41
Obrázek 20 Zpracování olše lepkavé .....	42
Obrázek 21 Kácení stromů na lokalitě Hájek v únoru 2018 .....	42
Obrázek 22 Kvadrant SZ (olše lepkavá) .....	45
Obrázek 23 Kvadrant JZ (olše lepkavá).....	46
Obrázek 24 Kvadrant SV (olše lepkavá).....	47
Obrázek 25 Kvadrant JV (olše lepkavá) .....	48
Obrázek 26 Procentuální zastoupení izomerů HCH ve vzorcích olše lepkavé .....	49
Obrázek 27 Kvadrant SV (bříza bělokorá).....	50
Obrázek 28 Kvadrant JV (bříza bělokorá) .....	50
Obrázek 29 Kvadrant SZ (bříza bělokorá) .....	51
Obrázek 30 Kvadrant JZ (bříza bělokorá).....	52
Obrázek 31 Procentuální zastoupení izomerů HCH ve vzorcích břízy bělokoré.....	53
Obrázek 32 Průměrné koncentrace HCH napříč letokruhy u obou stromů.....	53
Obrázek 33 Průměrná koncentrace sumy izomerů HCH v olši lepkavé a bříze bělokoré .....	55

## Seznam tabulek

Tabulka 1 Fyzikální a chemické vlastnosti $\alpha$ -HCH [7, 8].....	17
Tabulka 2 Fyzikální a chemické vlastnosti $\beta$ -HCH [7, 8].....	18
Tabulka 3 Fyzikální a chemické vlastnosti $\gamma$ -HCH [7, 8].....	19
Tabulka 4 Fyzikální a chemické vlastnosti $\delta$ -HCH [7, 8].....	20
Tabulka 5 Druhy SPME vláken [49].....	34
Tabulka 6 Retenční časy a SRM přechody měřených analytů (HCH) na GC/MSMS.....	44

## Seznam symbolů a zkratek

Zkratka	Vysvětlení
$\alpha$ -HCH	alfa izomer Hexachlorcyklohexanu
$\beta$ -HCH	beta alfa izomer Hexachlorcyklohexanu
$\gamma$ -HCH	gama izomer Hexachlorcyklohexanu
$\delta$ -HCH	delta izomer Hexachlorcyklohexanu
$\varepsilon$ -HCH	epsilon izomer Hexachlorcyklohexanu
$K_{ow}$	rozdělovací koeficient oktanol/voda
$K_{aw}$	rozdělovací koeficient vzduch/voda
$K_{oa}$	rozdělovací koeficient oktanol/vzduch
PTFE	polytetrafluorethylen
CNS	centrální nervová soustava
LLE	extrakce kapaliny kapalinou (liquid-liquid extraction)
SPME	mikroextrakce tuhou fází (solid phase micro-extraction)
PDMS	polydimethylsiloxan
PDMS/DVB	polydimethylsiloxan/divinylbenzen
PDMS/Carboxen	polydimethylsiloxan/Carboxen
CW/DVB	Carbowax/Divinylbenzen
CW/TPR	Carbowax/Templated Resin
PA	polyakrylát
LC	kapalinová chromatografie (liquid chromatography)
GC	plynová chromatografie (gas chromatography)
MS	hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)
GC/MSMS	plynový chromatograf s hmotnostním spektrometrem
FID	plamenově ionizační detektor (flame ionization detektor)
QqQ	trojitý kvadrupólový analyzátor
PEG	polyetylenglykol
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie (High performance liquid chromatography)
SZ	severozápadní
SV	severovýchodní
JZ	jihozápadní
JV	jihovýchodní

# 1 Úvod

Předkládaná bakalářská práce se zabývá distribucí pesticidů ve dvou zkoumaných dřevinách. Konkrétně se jedná o organochlorovaný pesticid Lindan (gama izomer hexachlorcyklohexanu, HCH) a o archivované dřeviny olši lepkavou a břízu bělokorou. Obě tyto testované dřeviny pocházejí z kontaminované lokality v Karlovarském kraji. Lindan byl vyráběn ve druhé polovině 20. století a používal se zejména jako insekticid po celém světě, a to především v zemědělství. Při výrobě Lindanu ve Spolaně Neratovice vznikalo značné množství balastních izomerů HCH. Na studované lokalitě jsou balastní izomery HCH ze Spolany uloženy do nezabezpečené výsypky lomu Hájek, odkud prosakují do pramene Ostrovského potoka.

Tato bakalářská práce se snaží experimentálně vyvrátit následující hypotézu: Izomery HCH jsou v biomase studovaných dřevin distribuovány uniformně a bez směrové závislosti, gradient kontaminace podzemní vody se nepromítá do směrového rozložení koncentrací HCH v biomase dřevin, přičemž gradient kontaminace podzemní vody je předpokládán od severozápadu k jihovýchodu.

Práce využívá archivní příčné řezy biomasou dřevin pokácených na lokalitě Hájek v únoru roku 2018. Dřeviny byly sklizeny cca 100 m od pramene Ostrovského potoka, kde sumární koncentrace HCH dosahují hodnoty okolo  $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Pozice studovaných dřevin před sklizní se nacházela cca 5 m jihovýchodně od kontaminovaného drénu.

Obě zkoumané dřeviny patří do čeledi břízovité (*Betulaceae*). Ovšem olše lepkavá je tzv. freatofyt, což jsou dřeviny, jejichž kořeny jsou obvykle neustále v kontaktu s vodním zdrojem. Olše lepkavá tento neustálý kontakt vyžaduje, jelikož není schopna regulovat otevřenost svých listových průduchů. Kvůli tomuto faktu nedokáže olše lepkavá hospodařit s vodou. Evapotranspirace vody u břízy bělokoré je nižší než u olše lepkavé a z tohoto důvodu je méně náročná na vlhkost stanoviště.

Práce dále porovnává výsledky ze dvou použitých extrakčních metod, mikroextrakce tuhou fází (SPME) a extrakce organickými rozpouštědly.

## 2 Cíle

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo studium distribuce organochlorovaných pesticidů ve vzorcích z biomasy. Specificky se jednalo o dřeviny olši lepkavou a břízu bělokorou, ze kterých byly provedeny systematické odběry a následné analytické stanovení se zaměřením na izomery hexachlorocyklohexanu. Vzorky byly odebrány formou návrtů dřevní biomasy napříč letokruhy a také ve čtyřech různých směrech (kvadrantech). Odebrané vzorky byly následně zpracovány dvěma různými extrakčními metodami – extrakce organickými rozpouštědly a mikroextrakce tuhou fází (SPME). Všechny vzorky byly následně změřeny na plynovém chromatografu s hmotnostním spektrometrem (GC/MSMS).

Dalším cílem bakalářské práce bylo zhodnocení, zda zkoumané dřeviny jsou vhodné pro metodu phytoscreening.

### 3 Teoretická část

Teoretická část této bakalářské práce začíná představením a základní charakteristikou hexachlorocyklohexanu, v minulosti hojně používaného pesticidu. Dále se tato část zaměřuje na vlastnosti jeho izomerů, jejich efektu na životní prostředí a člověka, historii výroby a použití HCH jak v České republice, tak ve světě. Stručně je také popsána historie lokality, ze které byly zkoumané biomasy odebrány. Dále jsou zde zmíněny extrakční metody, které byly využity k přípravě všech vzorků biomasy pro následné analytické stanovení izomerů HCH.

Poté se práce soustředí na stručný popis obou použitých dřevin - olše lepkavé a břízy bělokoré. Následně je zmíněna nová inovativní metoda s názvem phytoscreening. Tato metoda používá rostlinné matrice k detekci kontaminace podzemní vody. Na konci teoretické části je zmíněna plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie a extrakční metody, které byly použity při praktické části této bakalářské práce.

## 3.1 Hexachlorcyklohexan HCH

Hexachlorcyklohexan (HCH), také dříve známý pod názvem BHC (benzen hexachlorid), je bílá pevná látka, nepříjemného zápachu. Hexachlorcyklohexan (HCH) je obecně používaný název pro všech osm izomerů 1,2,3,4,5,6-HCH. Těchto osm HCH izomerů je označováno pomocí písmen řecké abecedy, či jejich znaků (např. alfa izomer  $\alpha$ -HCH). Gama izomer, který je také často označován jako Lindan, je jedna ze zakázaných látek Stockholmské úmluvy, společně s alfa a beta izomery HCH. [1, 2]

Historicky je Lindan jedním z nejvíce používaných pesticidů, je předpokládáno, že celosvětově bylo použito až 600 milionu tun gama izomeru HCH. Hexachlorcyklohexan je umělá látka vyráběna fotochlorací benzenu. Výrobní proces má za výsledek různé procentuální složení produkovaných izomerů výsledné směsi. Typické rozložení izomerů je 60 až 70 % alfa izomeru, 5 až 12 % beta izomeru, 10 až 15 % gamma izomeru, 6 až 10 % delta izomeru. Pokud jsou izomery hexachlorcyklohexanu ve směsi v těchto poměrech, bývá tento produkt označován jako technický hexachlorcyklohexan (tHCH). Další zdroje [3] uvádí možnou přítomnost epsilon izomeru 3 - 5%. Ostatní izomery se formují ve stopovém množství. [2, 4, 5]

### 3.1.1 Izomery HCH

Těchto osm izomerů se liší v poloze substituovaných chlorů kolem molekuly cyklohexanu, konkrétně v jejich ekvatoriálních či axiálních polohách. Ze všech těchto osmi izomerů jsou stabilní pouze alfa, beta, gamma, delta a epsilon izomery. [1, 4]

Fyzikální a chemické vlastnosti prvních čtyř izomerů ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH a  $\delta$ -HCH) jsou velice rozdílné. Například, beta izomer má značně vyšší bod tání než ostatní izomery. Poločas rozpadu pro gama izomer v zemědělské půdě je přibližně 3 až 7 týdnů. Pro alfa izomer je to výrazně déle, až 20 týdnů. Delta a beta izomery jsou více stabilní, méně tedy podléhají degradaci v přírodě než je tomu u alfa a gama izomeru. Na základě tohoto faktu se detekce delta a beta izomerů využívá jako indikátor pro výskyt HCH v přírodě. Rozdíly ve fyzikálních a chemických vlastnostech izomerů jsou způsobeny rozdílným rozmístěním chlorů v molekule izomerů. Konkrétně beta izomer má všechny atomy chloru v ekvatoriálních pozicích, zatímco gama izomer má v axiálních pozicích tři atomy chloru. Tento fakt způsobuje zvýšenou stabilitu beta izomeru, která má pak za důsledek jeho větší perzistenci v organismech. [4, 5, 6]

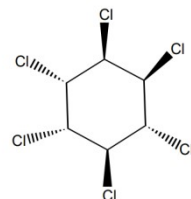
V následujících tabulkách (tabulka 1 až 4) jsou popsány fyzikální a chemické vlastnosti čtyř izomerů HCH ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH a  $\delta$ -HCH). Na obrázcích 1 až 8 jsou ukázány konfigurační vzorce těchto izomerů.



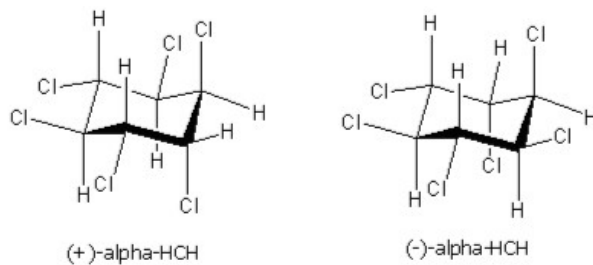
## Alfa-hexachlorcyklohexan ( $\alpha$ -HCH)

Tabulka 1 Fyzikální a chemické vlastnosti  $\alpha$ -HCH [7, 8]

Sumární vzorec	$C_6H_6Cl_6$
Vzhled	Pevná krystalická látka
Molekulová hmotnost	$290,83 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Bod Varu	$288 \text{ }^\circ\text{C}$ při 101,325 kPa
Bod tání	$158\text{-}160 \text{ }^\circ\text{C}$
Tenze par	$0,25 \text{ Pa}$ při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$
Rozpustnost ve vodě ( $20\text{-}30 \text{ }^\circ\text{C}$ )	$1,5\text{-}10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$
Log $K_{ow}$	3,8
Log $K_{aw}$	-3,02 až -3,68
Log $K_{oa}$	7,61



Obrázek 1 Konfigurační vzorec  $\alpha$ -HCH [9]

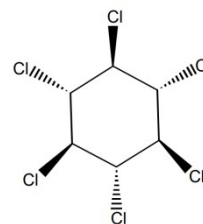


Obrázek 2 Axiální a ekvatoriální polohy chlorů u dvou různých enantiomerů  $\alpha$ -HCH [10]

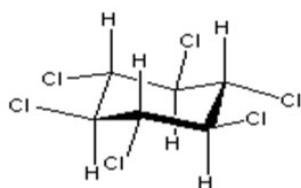
## Beta-hexachlorcyklohexan ( $\beta$ -HCH)

Tabulka 2 Fyzikální a chemické vlastnosti  $\beta$ -HCH [7, 8]

Sumární vzorec	$C_6H_6Cl_6$
Vzhled	Pevná krystalická látka
Molekulová hmotnost	$290,83 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Bod Varu	$374 \text{ }^\circ\text{C}$ (hrubý odhad)
Bod tání	$312\text{-}315 \text{ }^\circ\text{C}$
Tenze par	$0,053 \text{ Pa}$ při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$
Rozpustnost ve vodě ( $20\text{-}30 \text{ }^\circ\text{C}$ )	$0.2\text{-}5 \text{ mg}\cdot\text{mol}^{-1}$
Log $K_{ow}$	3,78
Log $K_{aw}$	-4,62 až -4,68
Log $K_{oa}$	8,88



Obrázek 3 Konfigurační vzorec  $\beta$ -HCH [9]

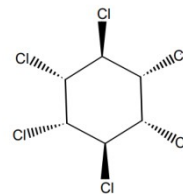


Obrázek 4 Axialní polohy atomů chloru v axiálních polohách  $\beta$ -HCH [10]

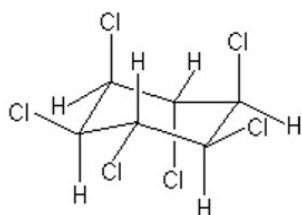
## Gamma-hexachlorcyklohexan ( $\gamma$ -HCH)

Tabulka 3 Fyzikální a chemické vlastnosti  $\gamma$ -HCH [7, 8]

Sumární vzorec	$C_6H_6Cl_6$
Vzhled	Pevná krystalická látka
Molekulová hmotnost	$290,83 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Bod Varu	$323,4 \text{ }^\circ\text{C}$ při $101,325 \text{ kPa}$
Bod tání	$112,5 \text{ }^\circ\text{C}$
Tenze par	$0,056 \text{ Pa}$ při teplotě $25^\circ\text{C}$
Rozpustnost ve vodě ( $20\text{--}30 \text{ }^\circ\text{C}$ )	$6\text{--}17 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$
Log $K_{ow}$	4,10
Log $K_{aw}$	-4 až -4,1
Log $K_{oa}$	7,85



Obrázek 5 Konfigurační vzorec  $\gamma$ -HCH [9]

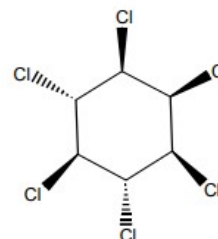


Obrázek 6 Ekvatoriální a axiální polohy atomů chloru  $\gamma$ -HCH [10]

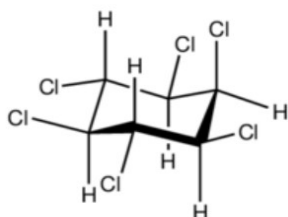
## Delta-hexachlorcyklohexan ( $\delta$ -HCH)

Tabulka 4 Fyzikální a chemické vlastnosti  $\delta$ -HCH [7, 8]

Sumární vzorec	$C_6H_6Cl_6$
Vzhled	Pevné šupinky
Molekulová hmotnost	$290,83 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Bod Varu	$60 \text{ }^\circ\text{C}$ při 48 Pa
Bod tání	$138 \text{ }^\circ\text{C}$
Tenze par	$0,047 \text{ Pa}$ při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$
Rozpustnost ve vodě ( $20\text{--}30 \text{ }^\circ\text{C}$ )	$9\text{--}31 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$
Log $K_{ow}$	4,14
Log $K_{aw}$	-4,54
Log $K_{oa}$	8,84



Obrázek 7 Konfigurační vzorec  $\delta$ -HCH [9]



Obrázek 8 Ekvatoriální a axiální polohy atomů chloru  $\delta$ -HCH [11]

### 3.1.2 Toxicita a perzistence

Lindan ( $\gamma$ -HCH) je perzistentním organochlorovaným insekticidem, který byl hojně využíván v minulosti za účelem redukce počtu zemědělských škůdců a ochrany plodin. Ačkoliv jeho použití se ukázalo jako poměrně úspěšné, nekontrolované nakládání s Lindanem a taktéž nekontrolované likvidační procesy balastních izomerů měly za následek vytvoření mnoha skládek a kontaminovaných lokalit. [12]

Velké množství odpadu z produkce Lindanu bylo způsobeno tím, že pouze jeden izomer, a to konkrétně  $\gamma$ -HCH, má insekticidní vlastnosti. Z tohoto důvodu byla prováděna separace ostatních izomerů, které se ve vyrobené směsi izomerů vyskytovaly. Při výrobě Lindanu zbylých 85 % izomerů vzniká jako vedlejší produkt. S každou vyrobenou tunou gama izomeru

bylo vyrobeno dalších 8 až 12 tun balastních izomerů. Odhaduje se, že bylo vyrobeno přibližně 600 tisíc tun gama izomeru, tudíž odhadem vzniklo dalších 4,8 až 7,2 milionu tun přebytečného materiálu ve formě balastních izomerů, se kterým se nakládalo jako s nepotřebným odpadem. Tyto balastní izomery byly obvykle neadekvátně uloženy do skládek. Příklady států potýkající se s touto problematikou HCH jsou Čína, Argentina, Albánie, Chorvatsko, Česká republika, Francie, Německo, Itálie, Polsko, Rusko, Nizozemí, Turecko, Anglie, USA a další. V květnu 2009 byly alfa, beta, a gama izomery HCH uvedeny jako takzvané „perzistentní organické látky“ (POP's) do Stockholmské úmluvy (Stockholm convention), problematika HCH je díky této úmluvě rozpoznána jako celosvětový ekologický problém. [3, 13]

V současnosti je v České Republice zakázáno veškeré použití Lindanu v zemědělství. Platná legislativa České republiky stanovuje hodnoty maximálního přípustného znečištění pesticidy. V případě pitné vody je maximální přípustná hodnota rovna  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  pro jednotlivé pesticidní látky a pro sumu pesticidních látek je to pak  $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 252/2004 Sb). Existuje také maximální přípustná hodnota pro půdu, ta je stanovena na  $0,01 \text{mg}\cdot\text{kg}_{\text{suš}}^{-1}$  pro individuální pesticidy (vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 153/2016 Sb). [14, 15]

### 3.1.2.1 POPs

POPs neboli perzistentní organické látky (anglicky Persistent Organic Pollutants) je pojmenování pro skupinu látek znečišťující životní prostředí. Typicky se jedná o bioakumulativní, perzistentní (vydrží v prostředí dlouhou dobu, než dojde k jejich přeměně či rozkladu) a toxické látky. Mezi další vlastnosti látek zařazených do této skupiny patří lipofilita a hydrofobie. Tyto jejich vlastnosti mají za důsledek, že se v půdě a vodních systémech váží především na organickou hmotu. Dalším dopadem těchto vlastností je fakt, že v organismech se váží ochotně na lipidy a především tedy na tukové tkáně. Díky této skutečnosti mají schopnost se akumulovat v potravinovém řetězci. [16, 17, 18]

### 3.1.2.2 Toxicita HCH pro člověka

V minulosti byl HCH používán především jako insekticid pro redukci množství škůdců a ochrany semen. Hojně byl používán k ochraně bavlny, cukrové řepy, rýže, brukve a řepky. HCH se do prostředí dostával již při samotné aplikaci v zemědělství. V současnosti jsou největším problémem především eroze kontaminované půdy. [2, 19]

HCH primárně zasahuje centrální nervovou soustavu (CNS), ovšem jednotlivé izomery se liší v jejich biologické aktivitě a efektu na CNS. Alfa a gama izomer působí na CNS jako stimulanty způsobující křeče. Oproti tomu beta a delta izomer působí na CNS především jako inhibitory. Celkově je nutné poznamenat, že znalosti účinků izomerů HCH (až na gama izomer)

na lidskou populaci jsou omezené a některé poznatky jsou odvozené z efektů, které mají izomery při pokusech na laboratorních zvířatech. [19]

Jsou popsány jak případy onemocnění v důsledku expozice HCH, tak případy smrtelné otravy gama izomerem HCH. Symptomy byly následující: závratě, únava, bolesti hlavy, zvracení, ataxie, třesení. [20]

Další efekty gama izomeru na lidské tělo mohou být dýchací problémy při akutní expozici. Chronická expozice může způsobit hepatické problémy, onemocnění ledvin, ovlivnění reprodukčních funkcí. [21]

Člověk může být HCH vystaven např. skrze léčebné přípravky (obsahující HCH), nejčastěji se jednalo o přípravky proti svrabu a vším. Dalším možnou cestou expozice je požití kontaminovaných potravin či vody, případně dýcháním vzduchu obsahujícího částice HCH. Konkrétně gama izomer byl zjištěn v lidské krvi a v lidském mateřském mléku. [22]

Technický HCH je klasifikován jako látka kategorie B2. Je tedy považován za možný lidský karcinogen. Na zařazení do vyšší kategorie se data ohledně karcinogenity HCH považují za nedostačující. Jsou však známé studie, které ukazují zvýšené riziko Non-Hodgkinova lymfomu. Existuje několik dalších studií a výzkumů poukazujících na možný vliv alfa, beta a gama izomeru na rakovinu prsu. [10, 23, 24]

### 3.1.2.3 *Toxicita HCH pro zvířata*

Beta i gama izomer byly shledány jako látky akutně toxické pro vodní organismy. Například beta izomer disponuje negativními účinky na reprodukční systém organismů. Gama izomer HCH byl identifikován jako mírně toxický pro ptáky a savce. Jeho chronická expozice měla za důsledek negativní efekt na produkci vajec a parametru přežití u ptáků. Byl sledován i pokles hmotnosti u savců a účinek na endokrinní žlázy. [25]

Jelikož karcinogenita HCH u lidí není náležitě prostudována, data získaná z experimentů na zvířatech poskytují základ, ze kterého se usuzují efekty HCH. U kryš a myší dlouhodobé dávkování alfa izomeru HCH mělo za důsledek vznik tumorů a karcinomů v žaludku. Další studie prokázaly, že tento izomer neinicuje karcinogenní aktivitu, ale způsobuje tvorbu tumorů. [10, 25]

U hmyzu gama izomer HCH působí na centrální nervovou soustavu a způsobuje rychlou smrt doprovázenou prudkými křečemi. Jedna z toxických vlastností gama izomeru je jeho interakce s receptorem kyseliny gama-aminomáselné (angl. GABA), kde brání neurotransmisi právě této kyseliny. [4]

### 3.1.2.4 *Perzistence a degradace*

Díky perzistenci HCH může být v dnešní době zjištěn ve vzduchu, vodě, půdě ale i v organismech na všech kontinentech. Stopy HCH byly nalezeny i mimo oblasti dřívější výroby, například v arktických oblastech. Vlastností překonávat velké vzdálenosti se zabývala studie, která zjistila, že alfa izomer je schopný překonat vzdálenost až 22 000 kilometrů a gama izomer vzdálenost 12 000 kilometrů. [21, 26]

Degradace HCH je obtížná jednak kvůli vzniku toxických meziproductů ale především kvůli přítomnosti chlóru, který činí HCH méně náchylný vůči biodegradaci. Dále vazba uhlík-halogen činí sloučeninu persistentní a přirozeně toxickou pro životní prostředí. Z tohoto důvodu je během degradace těchto látek nejdůležitějším krokem eliminace šesti atomů chlóru. V různých environmentálních matricích se ze všech izomerů dominantně vyskytuje beta izomer. Beta izomer má ze všech izomerů nejdelsí životnost, nachází se ve vzorcích i po dlouhé době, kdy ostatní izomery podlely přeměně. Z izomerů HCH byl právě beta izomer ve vzorcích v 90% převaze, a to v lidské krvi, mateřském mléku, zvířecích vláknech a půdě. V případě perzistence je beta izomer nejvíce relevantní, jelikož je ze všech izomerů HCH nejvíce rezistentní vůči degradaci (kvůli poloze chlorů v jeho molekule). Například jeho biokoncentrační faktor v lidských tukových vrstvách je 30krát vyšší než gama izomeru HCH a jeho poločas rozpadu v krvi je také značně nižší. Z těchto důvodů je beta izomer často používán jako indikátor aplikace HCH v minulosti v daném regionu. [21, 27]

### 3.1.3 Historie globálně

HCH byl produkován v mnoha evropských státech a to především v letech 1950 až 1990. Mezi státy, kde docházelo k produkci, se řadí například: Česká Republika, Německo, Francie, Velká Británie, Itálie, Polsko, Španělsko a Rumunsko. K produkci HCH docházelo i ve státech mimo Evropu, například v Argentině, USA, Indii, Japonsku, Rusku a Číně. Celkové množství gama izomeru HCH pro zemědělské využití se odhaduje okolo 450 tisíc tun od roku 1950 do roku 2020. Po součtu s užitím gama izomeru ve farmacii, lesnictví a dalšími odvětvími, dostáváme celkově 600 tisíc použitých tun. [28, 29]

### 3.1.4 Historie v ČR

V roce 1961 začala v České republice produkce HCH, a to v továrně Spolana Neratovice, kde docházelo k produkci především v šedesátých letech dvacátého století. Jako důsledek této výroby bylo v České republice kontaminováno HCH několik lokalit. U některých lokalit je jejich náprava již dokončena, kdežto některé lokality jsou sanovány dodnes. [30, 31]

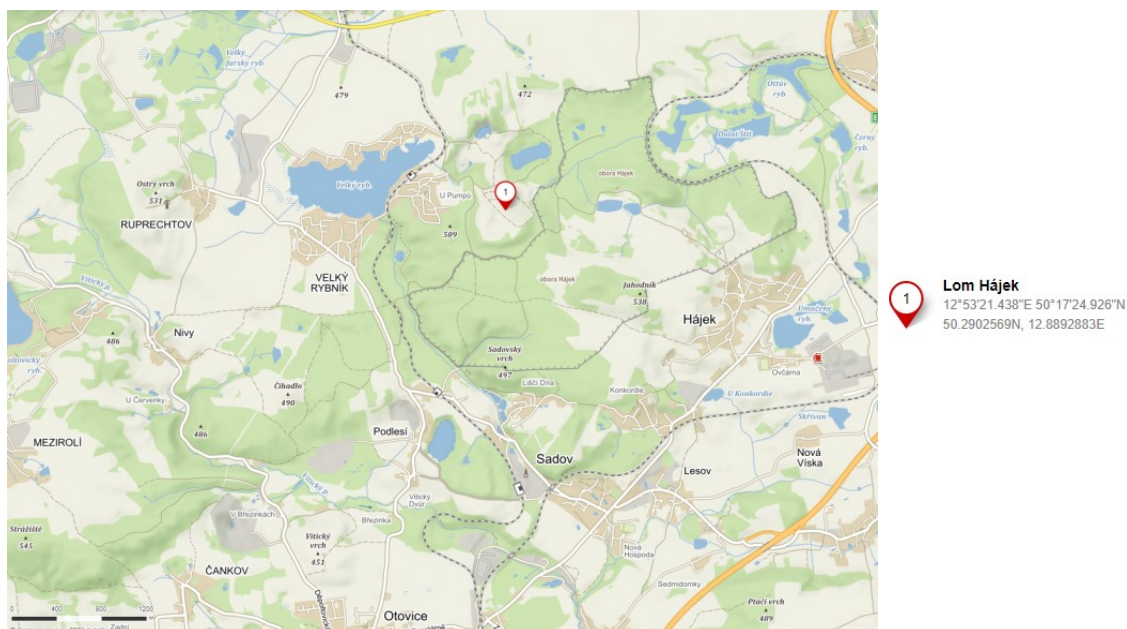
### 3.1.4.1 *Spolana Neratovice*

Spolana Neratovice je chemická továrna sídlící v Neratovicích, její areál se nachází u řeky Labe. Po většinu času se jednalo o státní podnik, který byl v roce 1992 transformován do společnosti SPOLANA s.r.o. (dále jen „Spolana“). Tato firma je v současnosti jediným výrobcem PVC a kaprolaktamu v České republice. Mezi její další produkty se řadí např. hydroxid sodný, kyselina sírová či kyselina chlorovodíková. [32]

Spolana byla jediným výrobcem Lindanu v České republice, kdy vyprodukovala až 3300 tun gama izomeru HCH a celkem 61 680 tun technické směsi HCH v letech 1963 až 1972. Továrna v těchto letech také vyráběla komponenty Agent Orange a právě kvůli těmto látkám byla poté zastavena i produkce HCH. K tomuto kroku bylo přistoupeno, protože během produkce těchto herbicidů se u zaměstnanců objevily případy tzv. chlorakné. Odpadní izomery a chlorované benzeny byly dohromady skladovány ve výsypce dolu s názvem „Hájek“ blízko stejnojmenné vesnice nacházejících se v Karlovarském kraji. Spolana patří k nejlépe prostudovaným případům perzistentních organických látek v České republice. [28, 30, 33]

### 3.1.4.2 *Lom Hájek*

Prvotně měla lokalita Hájek být dolem pro uranovou rudu. V 60. letech byly provedeny geologické průzkumy na ověření zásoby uranové rudy. Došlo k otevření ložiska, ovšem postupem času se objevila řada nepříznivých faktorů a trvání těžby se stalo nereálným.



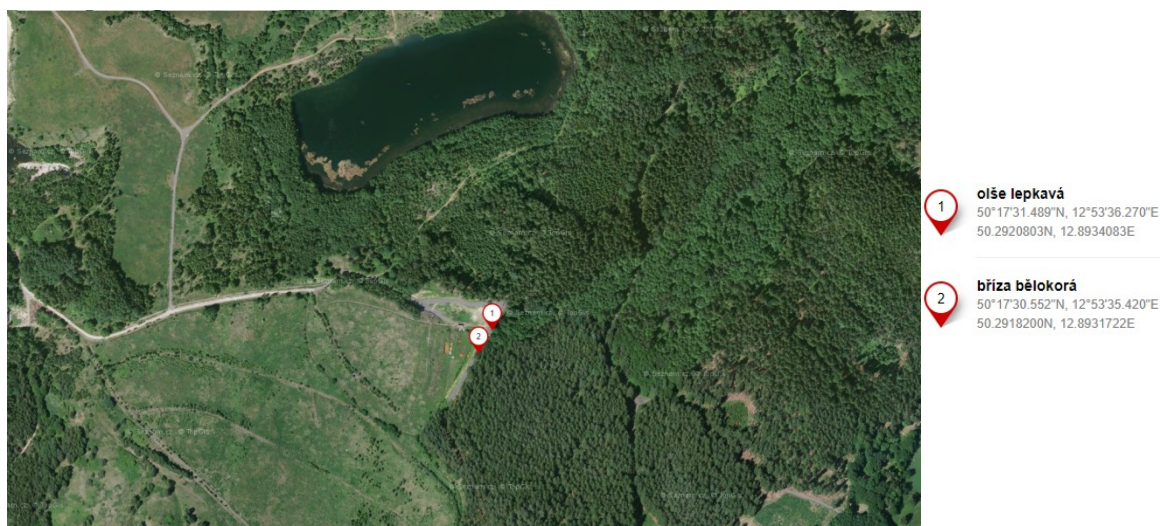
Obrázek 9 Lokalita lomu Hájek [34]



Následně bylo rozhodnuto uložit odpadní izomery z výroby gama izomeru HCH a také chlorované benzeny do vytvořené výsypky. Některé z těchto látek byly uloženy v kovových sudech, ale i v papírových balících či volně ložené. Odhaduje se, že hmotnost takto skladovaných látek ve výsypce je 3 až 5 tisíc tun. [28, 30, 35]

Později se prokázalo, že umístění výsypky lomu nebylo vhodné, jelikož byla vytvořena na kolektoru podzemních vod, do něhož vtékají podzemní vody z Krušných hor. Neustálé podmáčení půdy způsobené kolektorem podzemních vod bylo nejspíše důvodem pro sesuv zeminy, ke kterému došlo v roce 1977. Voda z výsypky odtéká do Ostrovského potoka, který napájí systém rybníků vzdálený 1,5 km od výsypky. Kvůli vysoké hladině podzemních vod dochází k vyplavování jak pevných částic, tak rozpuštěných chlorovaných částic a dochází k možné kontaminaci okolí. Dnes je omezen únik toxických látek a nadále probíhají práce na dekontaminaci lokality. Ovšem uložené chemikálie jsou v masě výsypky stále přítomny. Tyto snahy o dekontaminaci ztěžuje fakt, že přesná poloha uložení chlorovaných látek ve výsypce není známa. [28, 30, 36]

U paty výsypky dochází k výtoku drenážních vod. Výtok se skládá z vod spodních pramenů, vod prosakujících z výsypky a vody z povrchu výsypky. Byla zjištěna přítomnost HCH izomerů v tomto výtoku. Byl pozorován rozdíl v naměřených koncentracích chlorovaných organických látek během ročních období, v letních měsících byly naměřeny maximální hodnoty, kdežto v zimních měsících byly naměřeny hodnoty nejnižší. Mimo těchto chlorovaných organických látek obsahuje voda z drenáže značné množství rozpuštěného železa ( $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a manganu ( $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ). [30]



Obrázek 10 Poloha olše lepkavé a břízy bělokoré v lomu Hájek [34]

## 3.2 Zkoumané dřeviny

Jako vzorky k praktické části této bakalářské práce byly použity výřezy ze dvou stromů, a to břízy bělokoré a olše lepkavé. Tato kapitola se věnuje stručnému popisu těchto dřevin, jejich morfologii a výskytu.

### 3.2.1 Bříza bělokorá

Bříza bělokorá (latinským názvem *Betula pendula*) je středně vysoký strom spadající do čeledi břízovitých (*Betulaceae*). Dosahuje výšky až 30 metrů, kmen může nabývat průměru přes 75 centimetrů. Bříza bělokorá je považována za krátkověkou dřevinu a běžně se dožívá přibližně 90 až 100 let (vzácně se může dožít až 150 let). Bříza bělokorá má obvykle řídkou korunu, malé zubaté listy a charakteristicky zbarvenou kůru do bílé až šedivé barvy. [37, 38]



Obrázek 11 Bříza bělokorá [37]

Bříza bělokorá je silně světlo milná dřevina, je schopná růstu i na nehostinné půdě (málo vláhy) a její plody jsou velice efektivně přenášeny větrem. Lze je tedy často nalézt i na extrémních lokalitách, kde jim nehrozí konkurence od ostatních dřevin. Nejlépe však roste na poměrně úrodných půdách a půdách kyselého charakteru. Dokáže se ovšem přizpůsobit různým nepříznivým podmínkám jako je např. písčité podloží. Rozsáhle se vyskytuje v eurasijské zóně, lze jí nalézt i na hranici polárního kruhu. Na jihu Evropy zasahuje až k Pyrenejím. Největší převahu mají břízy především v severních oblastech Evropy. V České republice ji lze nalézt napříč celým územím. [37, 38]

### 3.2.2 Olše lepkavá

Olše lepkavá (latinsky *Alnus glutinosa*) je rychle rostoucí dřevina, spadající do čeledi břízovitých (*Betulaceae*). Dosahuje výšky až 35 metrů, a průměr kmenu může dosahovat i více než 1 metr. Je také považována za krátkověkou dřevinu, obecně se dožívající v rozmezí od 60 do 200 let. Koruna olše lepkavé je obvykle kuželovitého tvaru s rovnoměrně rozmístěnými větvemi. Kůra je v mladém věku dřeviny hladká a hnědé barvy, ovšem s věkem se stává tmavší, hrubší na dotek, s občasnými prasklinami. Olše lepkavá disponuje lepkavými pupeny, odtud dostala své jméno „lepkavá“ (*glutinosa*). [39, 40]

Olše lepkavá je dosti světlomilná dřevina, ovšem je schopná obstát v širokém spektru teplot, vcelku dobře snáší mrazy. Vyžaduje vysokou vláhu půdy, můžeme jí nalézt i na lokalitách s hladinou půdní vody konstantně na půdním povrchu. Může růst na různých typech půd, včetně chudých půd a píscích a šterku, pokud je vlhkost půdy dostatečná. Vlhkost vzduchu musí být vysoká po celou dobu růstu olše lepkavé, špatně snáší také nekonzistenci ve vlhkosti půdy. Olše lepkavá je schopna přežít záplavy lépe než většina ostatních lesních dřevin. Oproti bříze bělokoré jí vadí kyselé půdy. Olše lepkavá je považována za užitečnou dřevinu díky její schopnosti vázat atomy dusíku na uzliny kořenů, které jsou symbiotické s bakterií *Frankia Alni*, čímž zlepšuje celkovou kvalitu půdy. [39, 40]



Obrázek 12 Olše lepkavá [40]

Olše lepkavá preferuje břehy řek, potoků, tůní, rybníků, jezer a podmáčené půdy, jako například močály. Můžeme ji zde spatřit vedle topolů a vrb. Vyskytuje se i ve vyšších polohách, pokud je půda dostatečně vlhká, jako břehy pomalu tekoucích vod. Olše lepkavá se vyskytuje na většině území Evropy, od Skandinávie až po Středomoří. Je považována za Eurosibiřskou dřevinu. V České republice můžeme olši lepkavou spatřit sporadicky od nížin do nižších hor. Avšak antropogenním vlivem na lesní plochy v České republice došlo během posledních desetiletí k rychlému snížení populace olše lepkavé, jelikož půdy, na kterých olše lepkavé rostly, byly odvodněny a začaly být používány jako zemědělské půdy a pastviny. [39, 40]

### 3.2.3 Růst dřevin a letokruhy

#### 3.2.3.1 Tvorba letokruhu

Při růstu dřeviny dřevo přibývá sekundárním tloušťnutím těla rostliny vytvářejícím letokruh. Toto tloušťnutí je uskutečněno pomocí dělivého pletiva kambia, to je skupina buněk, které si dokážou zachovat dělivou funkci. Touto činností kambia se vytváří xylém (střed buňky) a floém (vně buňky), což jsou pletiva v rostlině, které mají vodivou funkci. Sekundární tloušťnutí způsobené kambiem probíhá pouze během určité části roku, kdy jsou pro tento růst vhodné podmínky. Délka této části roku je určena podle lokality dřeviny a rok od roku. V České republice je toto období obecně dlouhé 4 měsíce, a to od května do srpna, s tím že nejintenzivnější aktivita kambia je v červnu. U jehličnanů je viditelný rozdíl mezi jarním

a letním dřevem, ovšem u většiny listnatých dřevin je letní a zimní dřevo méně rozeznatelné. [41]

### 3.2.3.2 *Letokruhová analýza*

Jak již bylo zmíněno výše, během růstového období se kmen stromu rozšiřuje, vytváří se nová vrstva dřeva, které říkáme letokruh. Mladá dřevina roste mnohem rychleji než dospělá dřevina. Letokruhy jsou široké během brzkého růstu dřeviny (ve středu kmene), ale v průběhu dospívání se postupně stávají tenčími. Stará dřevina vytváří velice úzké letokruhy. [42]

Šířka a tvar letokruhů ovšem nejsou určeny pouze stářím dřeviny, ale i dalšími faktory. Například vhodná teplota podporuje vznik a růst dřeviny a tím pádem vznikají širší letokruhy. Dalšími faktory může být vlhkost, množství slunečního světla, naklonění stromu, intenzita větru a podobně. Například, letokruhy dřeviny, která byla vystavena silnému větru, nebudou symetrické, ale značně tlustší na jedné polovině kmenu a úzké na druhé polovině. Přírodní katastrofy, jako lesní požáry, mohou být v letokruzích také „zaznamenány“, a to jizvou, způsobenou přímým poškozením, nebo velice tenkým letokruhem. Pokud je dřevina na svahu, či nakloněna, vytváří si tzv. reakční dřevo, které umožňuje dřevině narovnáání. [42]

Díky letokruhům a jejich rozdílné šířce a tvaru, můžeme identifikovat klima v různých letech růstu dřeviny, jelikož právě šířka a tvar letokruhů jsou ovlivněny klimatickými a jinými faktory napříč rokem. [42]

## 3.3 Phytoscreening

Phytoscreening je metoda rozmáhající se v posledních desetiletích. Phytoscreening využívá vzorků odebraných z dřevin jako indikátorů kontaminace životního prostředí v okolí stromu, zejména půdy a vody. Metoda phytoscreeningu využívá jevu zvaného evapotranspirace, při kterém dřevina přijímá potenciálně kontaminovanou vodu. Při evapotranspiraci přijímá strom nejen vodu, ale i látky v ní obsažené, které jsou následně transportovány naskrz dřevinou. [43, 44]

Ve studiích využívající phytoscreening byla prokázána úspěšná detekce kontaminace podzemních vod chlorovanými uhlovodíky, konkrétně chlorovanými etheny [45]. Jedním z faktorů ovlivňující koncentrace kontaminantů ve dřevinách jsou srážky, které způsobí zředění kontaminované vody. Studie využívající k phytoscreeningu olši lepkavou dokázala přítomnost chlorovaných uhlovodíků v dřevině (včetně vinylchloridu). Tato studie také shledala přírodní jevy, jako je teplota, relativní vlhkost, doba slunečního svitu a srážky jako zásadní faktor pro množství koncentrace chlorovaných uhlovodíků ve zkoumané dřevině. [43]

## 3.4 Příprava vzorku

Příprava vzorků biomasy pro tuto bakalářskou práci byla provedena za pomoci dvou extrakčních metod. Jednou z těchto technik je metoda extrakce organickými rozpouštědly. Při experimentální části docházelo k extrakci pevné matrice, která obsahovala z více než 50 % vodu, proto je zde pro zjednodušení popsána metoda extrakce kapaliny kapalinou (LLE).

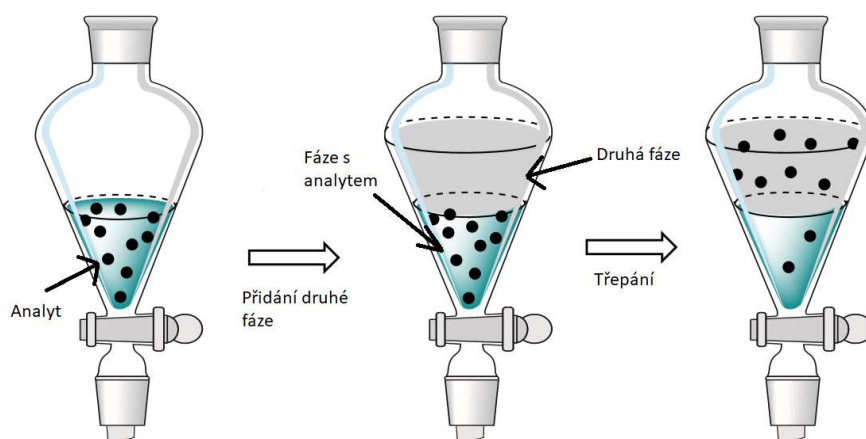
LLE neboli Liquid-liquid extraction, česky extrakce kapaliny kapalinou), také nazývaná „solvent extraction“. Druhou použitou metodou pro přípravu vzorku byla SPME (neboli Solid phase Microextraction), česky mikroextrakce tuhou fází.

### 3.4.1 Metoda LLE

Metoda LLE je jednou z nejstarších a nejvíce používaných extrakčních metod pro přípravu vzorku. Tato technika je postavena na faktu, že sloučenina se distribuje mezi dvě nemísitelné kapalně fáze. Rovnováha je určena fyzikálními a chemickými vlastnostmi dvou daných kapalných fází. [46, 47]

#### 3.4.1.1 *Princip LLE*

Princip metody LLE spočívá v přesunu analytu z vodního prostředí do prostředí rozpouštědla, aby mohlo dojít k následné analýze plynovou chromatografií či jinou analytickou metodou. V typické LLE proceduře se vodní prostředí smíchá s nepolárním nemísitelným rozpouštědlem, kterým může být například chloroform, toluen, hexan a další. Analyty musí být rozpustné v daném rozpouštědle. Po smíchání rozpouštědla a vodního prostředí se musí důkladně třepat s nádobou, ve které došlo ke smíchání, jelikož protřepávání pomáhá k vzájemnému promíchání těchto dvou fází. Po dokončení třepání se vytvoří částice připomínající kapičky, ty se vytváří, jelikož jsou tyto dvě fáze nemísitelné. Schéma tohoto procesu je ukázáno na obrázku 13. Během třepání se může vytvořit emulze, tu lze ovšem odstranit, např. použitím centrifugy. Fáze (pokud má menší hustotu než voda), ve které je konkrétní chtěný analyt rozpuštěn, se odebere, například pipetou, do jiné nádoby. K odebrání většiny analytu může být zapotřebí více opakovaných extrakcí. [46, 47]



Obrázek 13 Princip LLE [48]

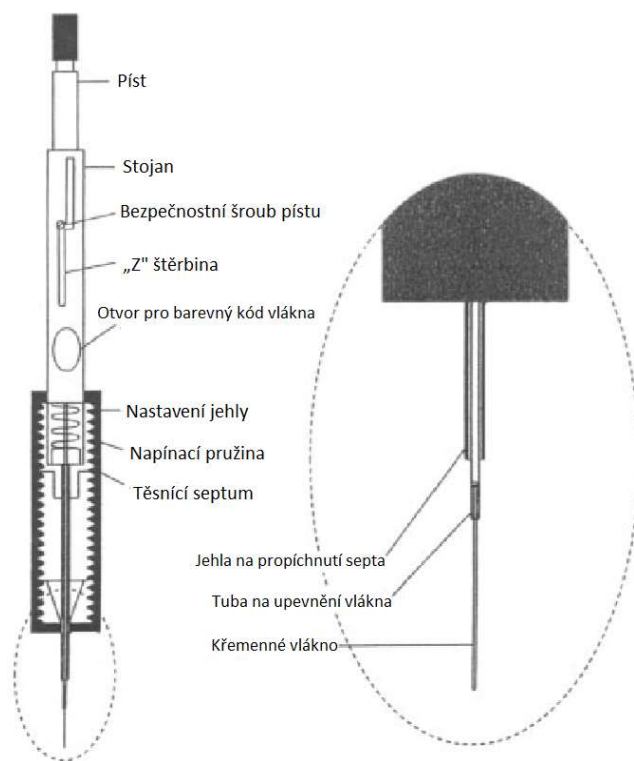
Úspěch LLE metody převážně závisí na správném vybrání rozpouštědel, na použití aditiv (například látky použité na úpravu pH, které mohou silně ovlivnit schopnost rozpouštění ve vodě) a na vlastnostech extrahovaných látek a nečistot. V případě, že látky, které do procesu zasahují, jsou podobného charakteru jako analyty, nemusí být LLE metoda extrakce těchto analytů vhodným způsobem extrakce. Klasická LLE procedura vyžaduje větší množství vzorku, minimálně 10 až 100 ml, v některých analytických oblastech i značně více (např. pro analytiku pesticidních látek). Dalším problémem je časová a pracovní náročnost této metody a komplikace s automatizováním procesu. Také finanční náklady velkého množství rozpouštědel (které mohou být i toxické) mohou být dalším negativem. Naopak pozitivem LLE metody je možnost zpracování velkého množství vzorků, metoda tedy disponuje velmi dobrou robustností a opakovatelností. [46, 47, 49]

### 3.4.2 Metoda SPME

Metoda SPME je účinnou sorpční/desorpční technikou, která eliminuje potřebu použití organických rozpouštědel a komplikované aparatury. SPME techniku lze použít v kombinaci jak s plynovou chromatografií, tak i s kapalinou chromatografií. [49]

V porovnání s ostatními běžnými extrakčními technikami má SPME metoda mnohé výhody. Například extrakce pesticidních látek metodou LLE, která může trvat i několik hodin. Oproti tomu metoda SPME je mnohem rychlejší, efektivnější a méně náročná co se týče práce s jedním vzorkem. Také vyžaduje velmi malé množství vzorku a není zapotřebí organické rozpouštědlo. Další výhodou metody SPME je možnost její automatizace, která celý proces přípravy vzorku značně zrychluje. [49, 50]

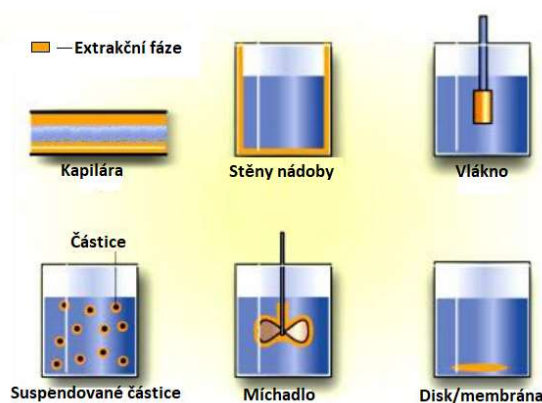
Metoda SPME rovněž integruje vzorkování, extrakci a zakoncentrování do jednoho kroku bez potřeby rozpouštědla. Na následujícím obrázku 14 je zobrazeno schéma SPME vlákna pro manuální použití. [49, 50]



Obrázek 14 Schéma SPME vlákna pro manuální použití [47]

### 3.4.2.1 Princip SPME

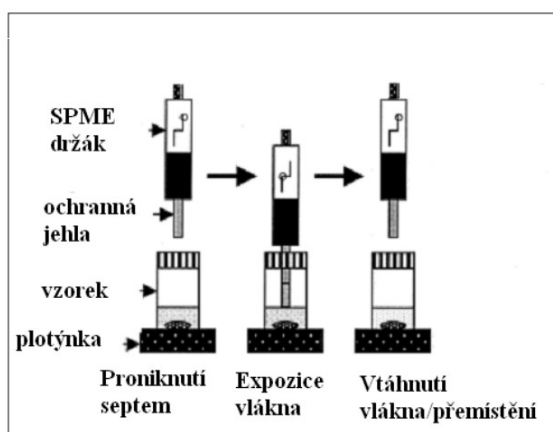
Existuje několik zařízení pro metodu SPME (viz obrázek 15), a to vlákno, kapilára, míchadlo, suspendované částice, stěna nádoby a membrána (disk). Další typy zařízení se nadále vyvíjí a testují. Momentálně nejpoužívanější typem aparátu je SPME vlákno. Toto vlákno je jednoduché zařízení připomínající injekční stříkačku. Jeden centimetr dlouhý sorbent, který je pokrytý polymerem, je přidělán k pístu z nerezů a nainstalován v držáku. Toto vlákno má chemicky modifikovaný povrch, který funguje v průběhu SPME jako stacionární fáze. Píst posouvá vlákno do duté kapiláry a zpět. Tato bakalářská práce pojednává především o práci se SPME vláknem. [49, 50]



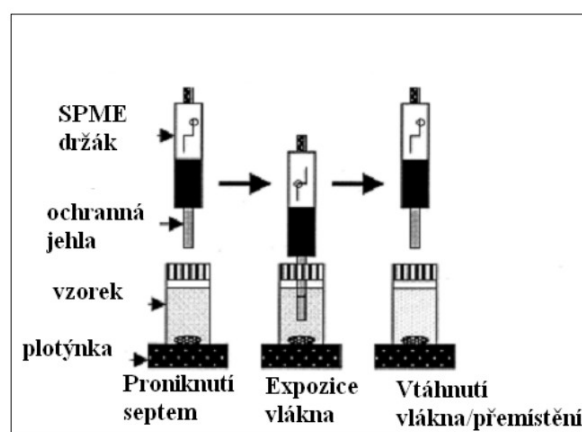
Obrázek 15 Zařízení SPME [51]

Základní princip metody SPME je založen na rozdělování molekul analytu mezi vzorkem a sorbentem na SPME zařízení. Toto rozdělování částic může být provedeno třemi způsoby. Vláknko může být vystaveno parám nad směsí (vzorkujeme tedy plynnou fází), tato metoda je nazývána HS-SPME (headspace SPME). Druhým způsobem je přímý kontakt vlákna s analyzovaným vzorkem, vlákno se do směsi ponoří (vzorkujeme kapalnou fází). Tento způsob nazýváme DI-SPME (direct immersion SPME, česky přímé ponoření). Tyto dvě metody jsou ukázány na obrázcích 16 a 17. Třetím způsobem je M-SPME (membrane SPME, česky membránové SPME), tato metoda využívá polyetylen glykolu (PEG) a polydimethylsiloxanu (PDMS) jako membránového materiálu, kde PEG se chová jako pseudo-kapalina při extrakční fázi metody. [52]

Použití zařízení začíná natažením vlákna do duté jehly, která se propustí do vzorkovnice. Poté dochází k sorpci organického analytu na vlákno. Když je dosaženo extrakčního času, vlákno se natáhne do jehly a jehla je vyndána ze vzorkovnice. Nakonec je SPME vlákno zavedeno do injektoru plynového chromatografu, kde dojde k termální desorpci analytů ze sorbentu. Tento celý proces může být automatizován za pomoci autosampleru. [49, 50, 53]



Obrázek 16 Postup při HS-SPME [54]



Obrázek 17 Postup při DI-SPME [54]



### 3.4.2.2 *Optimalizace metody SPME*

Při použití metody SPME není zapotřebí dosažení rovnováhy. Co je pro metodu SPME klíčové, je přesná délka doby vzorkování (extrakce), hloubka ponoření vlákna a v neposlední řadě teplota vzorku. Dalšími faktory, které ovlivňují průběh SPME, jsou polarita, tloušťka a pórovitost vlákna (sorbentu), pH vzorku a míchání vzorku. Nepochopitelně analyty jsou efektivněji extrahovány nepolárními sorbenty, např. polydimethylsiloxanem (PDMS). Naopak na polárnější látky je vhodnější použít SPME vlákno s kombinovaným sorbentem (např. PDMS/DVB – polydimethylsiloxan/divinylbenzen). Pórovitost sorbentu může být dalším důležitým faktorem, obzvláště při extrakci malých těkavých molekul. Existují SPME vlákna obsahující částice zvané Carbonex, které obsahují malé póry a používají se spolu s PDMS. Tlustší sorbent je schopen extrakce většího množství analytu než SPME vlákno s tenčím sorbentem. Oproti tomu výhody tenkého pokrytí vlákna spočívají v rychlejší difuzi. Přídavek solí do vzorku může výrazně zvýšit efektivitu extrakce u některých analytů, tento efekt je více patrný u látek, které mají nižší tenzi par. Míchání vzorku také zlepšuje extrakci a snižuje dobu jejího trvání. Míchání vzorků je obzvláště účinné pro látky s vyšší molekulovou hmotností a vysokými difúzními koeficienty. [49]

V následující tabulce 5 je uveden přehled běžných komerčních SPME vláken.

Tabulka 5 Druhy SPME vláken [49]

<b>Polydimethylsiloxan (PDMS)</b>	
Tloušťka	Vhodné pro
100µm	Těkavé látky
30µm	Nepolární částečně těkavé látky
7µm	Středně polární/nepolární částečně těkavé látky
<b>Polydimethylsiloxan/Divinylbenzen (PDMS/DVB)</b>	
Tloušťka	Vhodné pro
65µm	Polární těkavé látky
60µm	Obecné použití (pouze pro HPLC)
<b>Polydimethylsiloxan/Carboxen (PDMS/Carboxen)</b>	
Tloušťka	Vhodné pro
75µm	Stopové množství těkavých látek
<b>Carbowax/Divinylbenzen (CW/DVB)</b>	
Tloušťka	Vhodné pro
65µm	Polární látky
<b>Carbowax/Templated Resin (CW/TPR)</b>	
Tloušťka	Vhodné pro
50µm	Povrchově aktivní látky (pouze HPLC)
<b>Polyakrylát (PA)</b>	
Tloušťka	Vhodné pro
85µm	Polární částečně těkavé látky

## 3.5 Chromatografie

Chromatografie jsou fyzikálně-chemické separační metody, které slouží k rozdělení složek směsi mezi dvě fáze – stacionární a mobilní. Tyto dvě fáze mají různou některou fyzikálně-chemickou vlastnost. Chromatografie umožňuje separaci, identifikaci, purifikaci a následnou kvalitativní i kvantitativní analýzu organických sloučenin. Nutnou podmínkou pro analýzu je těkavost sloučeniny nebo musí tato sloučenina být rozpustná v daném vyhovujícím rozpouštědle. Možnost automatizace činí chromatografii velice efektivní technikou. Stacionární fázi chápeme jako fázi pevného skupenství nebo vrstvu kapaliny adsorbovanou na látku pevného skupenství. Mobilní fázi chápeme jako fázi složenou z kapalného nebo plynného komponentu. Dle typu mobilní fáze se určuje typ chromatografie, a to plynová, kapalná a fluidní chromatografie. [55, 56, 57]

Obecně můžeme chromatografické metody rozdělovat takto:

Podle fyzikálně chemického principu separace

- Adsorpční chromatografie.
- Rozdělovací chromatografie.
- Iontově výměnná chromatografie.
- Gelová permeační chromatografie.
- Afinitní chromatografie.

Podle skupenství mobilní fáze

- Kapalinová chromatografie (liquid chromatography, LC).
- Plynová chromatografie (gas chromatography, GC).

Základní chromatografické termíny

- Analyt – látka, která má být chromatograficky separována.
- Eluent – také známý pod termínem „mobilní fáze“, je to fáze používaná pro separaci analytu.

Tato práce je zaměřena na využití právě plynové chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem (GC/MSMS). [56, 57]

### 3.5.1 Plynová chromatografie

Poprvé byla plynová chromatografie použita pro separaci mastných kyselin v roce 1952 vědci jménem James a Martin. Po tomto úspěchu se technika plynové chromatografie rychle rozvinula. Stala se prvním analytickým nástrojem, který byl ovládán počítačem. V dnešní době je plynová chromatografie velice rozšířenou analytickou metodou.

### 3.5.1.1 *Princip plynové chromatografie*

Jedná se o separační analytickou metodu spočívající především na rozdílných teplotách varu nebo tlaku par a polaritě látek. Plynová chromatografie používá stacionární kapalnou fázi a inertní plynnou fázi a je schopná separace i velmi komplexních sloučenin. Přestože se přístroje používané v plynové chromatografii stále rozvíjejí a zlepšují, základní princip plynové chromatografie zůstává neměnný. Plynový chromatograf je složený z několika základních komponentů: injektoru, kolony, pece, detektoru a záznamového zařízení (obvykle počítač). [58, 59]

Při plynové chromatografii je nejdříve analyzovaný vzorek zaveden do injektoru, kde dojde k jeho zplynění (v případě kapalného nástřiku). Nosný plyn je současně mobilní fází, která unáší vzorek z injektoru do chromatografické kolony, kde dochází k separaci. Kolona se nachází v peci, kde dochází k chromatografické separaci analytů na základě jejich interakce se stacionární fází. Za kolonou se nachází detektor, který vytváří elektrický signál proporcionální vzhledem k množství eluovaných molekul analytu. [58, 59]

Injektor neboli nástřikový port je místo, na kterém dochází k zavedení vzorku do analytického systému. Injekce může být provedena ručně či automaticky specializovanou injekční stříkačkou. Vzorek může být zaveden do nástřiku v kapalně či plynné fázi, nebo pomocí SPME vlákna. Nosný plyn by měl být inertní vzhledem k stacionární fázi. Dusík, helium a vodík jsou nejčastěji používané nosné plyny, které musí mít i vysokou čistotu (99,999%). [60, 61]

V plynové chromatografii se nejčastěji používají kapilární kolony, které jsou vyrobené buďto ze skla nebo z křemíku. Na vnitřní straně těchto kolon je nanášena stacionární fáze. Pec plynového chromatografu slouží jako termostat, který kontroluje teplotu kolony během procesu separace. Mezi nejběžněji používané detektory s plynovým chromatografem patří plamenový ionizační detektor (FID) a hmotnostní spektrometr (MS). Detektor se nachází na konci vyústění chromatografické kolony a poskytuje kvantitativní a kvalitativní informaci o měřených analytech, které se eluují spolu s nosným plynem. [61, 62]

## 3.6 Hmotnostní spektrometrie

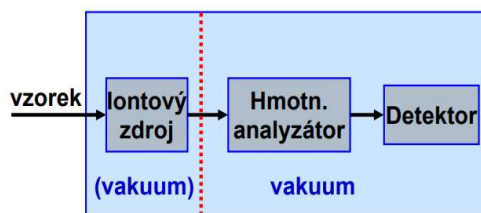
Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry, MS) je široce rozšířená analytická metoda, jejíž schopností je podat informace o molekulové hmotnosti a chemické struktuře organických látek. První zmínka [63] o přístroji využívající tento fenomén se objevila v roce 1912. Od té doby byla tato technika značně vylepšena a stala se důležitou součástí fyzikálních, chemických a forenzních laboratoří.

Hmotnostní spektrometrie je založena na ionizaci a fragmentaci molekul vzorku v plynné fázi. Technika hmotnostního spektrometru využívá faktu, že molekuly se fragmentují unikátním způsobem. Hmotnostní spektrometr je nejčastěji využíván ve spojení s plynovou a kapalnou chromatografií. Chromatografie slouží k separaci vzorku a hmotnostní spektrometr slouží k ionizaci, separaci iontů a jejich detekci. Spojení těchto dvou technologií umožňuje získání dvou relevantních dat, retenčního času a informací o hmotnostním spektru. Tato data se pak využívají ke srovnání s referenčními standarty. [63, 64, 65]

Hmotnostní spektrometr je analytické zařízení sloužící k změření a zaznamenání hmotnosti a náboje iontů. Tvoří ho tři základní části, kterými jsou iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor (viz obrázek 18). Mimo tyto tři základní části můžeme v hmotnostním spektrometru najít vakuový systém, iontovou optiku (její funkce spočívá v urychlování a fokusaci iontů). [66, 67]

### 3.6.1.1 Iontový zdroj

Iontový zdroj je součástí hmotnostního spektrometru, jehož funkcí je převedení neutrálních molekul analyzované látky na ionty (nabité částice). Tomuto procesu říkáme ionizace. Ionizační techniky lze rozdělit na tzv. „měkké“ a „tvrdé“. Měkká technika (např. chemická ionizace) spočívá v deprotonizaci molekuly a minimu fragmentovaných iontů, oproti tvrdé ionizační technice (např. elektronová ionizace) molekula nabývá menšího množství energie. [66, 67]



Obrázek 18 Hmotnostní spektrometr [66]

### 3.6.1.2 Hmotnostní analyzátor

V této části hmotnostního spektrometru dochází k rozdělování iontů, které jsou v plynné fázi, za přítomnosti vakua. Analyzátor získává informace o hmotnosti a náboji ( $m/z$ ) těchto iontů a rozděluje je dle poměru těchto dvou hodnot. Tyto hmotnostní analyzátoři můžeme rozdělit dle způsobu dělení iontů. Skenující analyzátoři (např. kvadrupólový analyzátor) propouštějí pouze ionty s určitým  $m/z$ . Dalším typem hmotnostních analyzátorů jsou iontové pasti (iontová past, orbitrap), které zadržují ionty za pomoci napětí elektrod a poté je analyzují. Průletové hmotnostní analyzátoři sledují čas, který ionty potřebují k dosažení určité vzdálenosti. Pro tuto bakalářskou práci byl použit takzvaný trojitý kvadrupólový analyzátor (QqQ), který je typicky používán pro kvantitativní analýzu. [66, 67]

### 3.6.1.3 *Detektor*

Poslední důležitou součástí je detektor, který zaznamenává rozdělené ionty. Vysílá signál adekvátní k počtu dopadajících iontů. Detektory rozdělujeme na dva typy, a to na „detektory pro přímé měření“ a „násobičové detektory“. [67]

## 4 Praktická část

V této části je uveden soupis použitých chemikálií a přístrojů, které byly v průběhu praktické části použity. Následně je zde sepsána metodika přípravy vzorkovnic a biomasy, dále je přiblížen postup odebírání vzorků z daného stromu. V další kapitole jsou již ukázána zpracovaná data obou stromů formou grafů. Nejdříve tyto grafy ukazují závislost mezi koncentracemi sumy HCH na gram sušiny v jednotlivých kvadrantech na letokruzích, dále jsou grafy zaměřeny na přítomnost jednotlivých izomerů HCH v biomasách. Následuje shrnutí výsledků obou stromů, kde jsou u každé dřeviny porovnány průměrné koncentrace HCH napříč letokruhy, kvadranty a metodami. Poslední kapitolou je diskuze, ve které dochází k porovnání výsledků obou dřevin. Porovnány jsou koncentrace v letokruzích a kvadrantech. V kapitole 4.4.1.5 a 4.4.2.5 jsou popsány rozdíly v přítomnosti izomerů HCH.

## 4.1 Použité Chemikálie

- Aceton (zakoupené od firmy Penta).
- Hexan (zakoupené od firmy Penta).
- Standard HCH – Mix 5 ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  v acetonu, Neochema).
- Interní standard  $\gamma$ -HCH D6 ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  v cyklohexanu, Dr. Ehrenstorfer).
- $100 \mu\text{m}$  PDMS SPME vlákno bylo zakoupeno od firmy Supelco.
- Ethanol (zakoupeno od Penta).

## 4.2 Použité Přístroje

- Dvourychlostní Aku vrtačka Bosch ASV 18-2A.
- Elektrická vrtačka Black&Decker.
- Analytické váhy Kern ABJ-NM/ABS-N.
- Pipety Eppendorf.
- Třepačka Plunotech.



## 4.3 Metodika

Vzorky byly odebrány ze dvou druhů vypreparovaných částí kmenů stromů, tvarem připomínající koláč. Konkrétně se jednalo o stromy břízy bělokorá a olše lepkavá. Postup odběru vzorků byl u obou dřevin obdobný. Nejprve byly spočítány jednotlivé letokruhy, v případě břízy bělokoré bylo stanoveno 40 letokruhů a v případě olše lepkavé bylo napočítáno 60 letokruhů. Dále byly oba koláče rozděleny na přibližně čtyři stejně velké kvadranty, a to SZ (severozápadní), SV (severovýchodní), JZ (jihozápadní) a JV (jihovýchodní). Kvadranty jsou označené podle světových stran, ke kterým směřovaly před pokácením stromu. Odběr všech vzorků dřevní biomasy byl proveden formou návrťů. V každém kvadrantu byly provedeny čtyři návrty ve dvanácti řadách (viz obrázky 19 a 20). V posledním kvadrantu bylo navíc odebráno dalších 12 vzorků (v každé řadě jeden návrť navíc). Tyto dodatečné vzorky byly odebrány za účelem stanovení sušiny. Celkově bylo tedy odebráno 204 návrťů na každý testovaný strom. Návrty byly provedeny vrtačkou, vyvrtaná dřevina byla lžičkou odebrána a přesunuta do předem zvážených vzorkovnic. Po těchto návrtech byly vzorkovnice znovu zváženy. Hmotnost všech odebraných vzorků biomasy se pohybovala v rozmezí od 0,8 g do 1,8 g. Po každém návrťu a odběru biomasy byly lžička i vrták očištěny od případné kontaminace ethanolem.



Obrázek 19 Zpracování břízy bělokoré



Obrázek 20 Zpracování olše lepkavé

Celkově bylo tedy odebráno 408 vzorků z obou stromů dohromady. Na stanovení sušiny bylo odebráno celkem 24 vzorků, z každého stromu 12. Na metodu SPME bylo odebráno 192 vzorků z obou dřevin (96 z jedné), stejně tomu tak bylo u metody LLE.



Obrázek 21 Kácení stromů na lokalitě Hájek v únoru 2018

Příprava vzorků biomasy na analýzy se lišila podle zvolené metody – extrakce rozpouštědlem a SPME metoda. Pro extrakci biomasy rozpouštědlem byla připravena směs acetonu a hexanu v poměru 1:1. Takto připravené rozpouštědlo bylo přidáváno o objemu 10 ml (v případě olše lepkavé) a 15 ml do vialek (v případě břízy bělokoré). Uzavřené vialky s přidaným rozpouštědlem byly intenzivně míchány na třepače po dobu 24 hodin. Poté byl do vzorkovnic přidán vyžíhaný síran sodný, a to z důvodu navázání vody z rozpouštědla. Po přidání síranu se vzorkovnice nechaly 1 hodinu odstát a následně byl za pomoci automatické pipety odebrán vždy 1 ml extraktu do vialek o objemu 2 ml, opatřených plastovým víčkem a PTFE septem. Před samotnou analýzou byl do všech těchto vialek přidán interní standart  $\gamma$ -HCH D<sub>6</sub>. U druhé použité metody SPME pro přípravu vzorku na analýzy byly vialky o objemu 20 ml, které byly opatřeny magnetickým víčkem s PTFE septem. Do těchto vialek se vzorky bylo přidáno 10 ml vody a interní standart  $\gamma$ -HCH D<sub>6</sub>. Sušina pro oba stromy byla zjištěna za pomoci vzorků z dvanácti vrtů. Vzorky byly zváženy a nechaly se vysušit v peci. Po ustálení hmotnosti (cca 6 hodin) se vzorky znovu zvážily a tímto postupem byl zjištěn úbytek vody ve vzorcích.

Ke všem provedeným analýzám byl použit plynový chromatograf ThermoTrace 1310 s hmotnostním detektorem Thermo TSQ 8000 s trojitým kvadrupólem. Tento analytický systém byl doplněn autosamplerem PAL RTC. V plynovém chromatografu byla instalována chromatografická kolonou DB-5MS s délkou 30 m, šířkou 0,25 mm a tloušťkou filmu 0,25  $\mu$ m (Agilent). Nosný plyn bylo helium s čistotou 5.0 (Linde Gas) a s nastaveným průtokem kolonou 1ml/min. Jako kolizní plyn byl použit argon s čistotou 4.8 (Linde Gas). Teplota transfer line byla nastavena konstantně na 250 °C a teplota iontového zdroje na 200 °C. Teplotní režim pece plynového chromatografu byl následující: počáteční teplota 60 °C byla stabilizována po dobu 2 minut, poté následoval teplotní gradient 8 °C/min na teplotu 100 °C, která byla ustálená 4 minuty. Poslední teplotní gradient byl 15 °C/min na konečnou teplotu 320 °C, která byla konstantní po dobu 2 minut. Limity stanovitelnosti byly pro izomery HCH 0,02  $\mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ .

**Tabulka 6 Retenční časy a SRM přechody měřených analytů (HCH) na GC/MSMS**

	Retenční čas [min]	Mateřský iont [m/z]	Produktový iont [m/z]	Kolizní energie [eV]
$\alpha$ -HCH	18,59	181	145	25
$\beta$ -HCH	19,03	219	145	8
$\gamma$ -HCH	19,05	224	150	20
$\gamma$ -HCH D6	19,11	181	145	25
$\delta$ -HCH	19,59	181	145	25
$\varepsilon$ -HCH	19,69	217	181	8

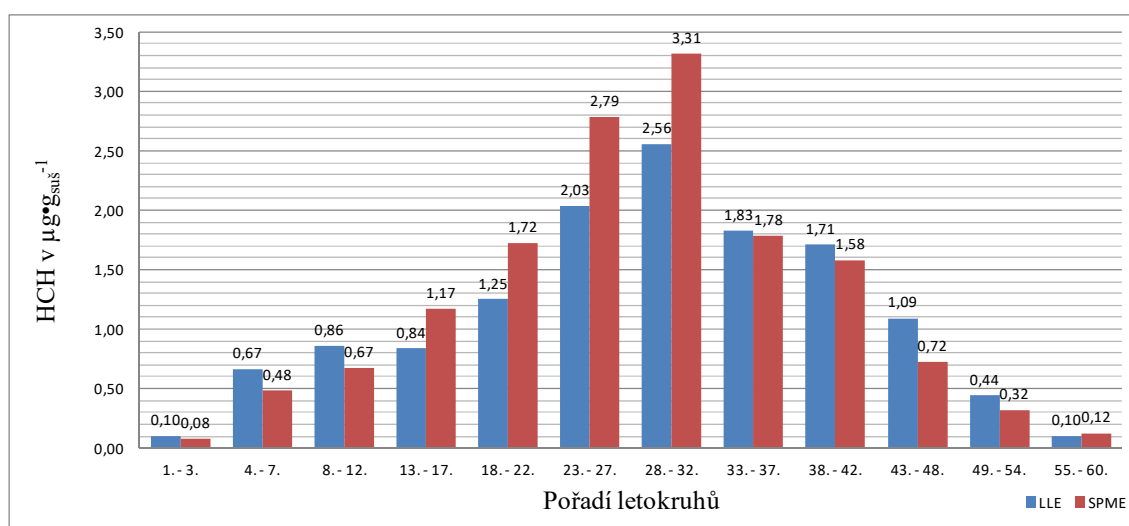
## 4.4 Výsledky

V této části bakalářské práce jsou sepsány získané výsledky měření sledující průměrné koncentrace sumy HCH napříč kvadranty a letokruhy. Jedná se o výsledky dvou stromů, olše lepkavé a břízy bělokoré. Tyto výsledky jsou zkoumány napříč čtyřmi kvadranty (SZ, SV, JZ, JV). Vzorky byly zpracovány dvěma extrakčními metodami, SPME a LLE, rozdíly těchto metod jsou pozorovány a porovnány. Celkově bylo sledováno 5 izomerů HCH, alfa až epsilon. V kapitolách 4.4.1.5 a 4.4.2.5 jsou popsány rozdíly v přítomnosti právě těchto pěti izomerů HCH.

### 4.4.1 Výsledky olše lepkavé

V této kapitole jsou uvedeny zpracované výsledky z analýz biomasy olše lepkavé pro jednotlivé kvadranty SZ, SV, JZ a JV. Graficky zpracované výsledky jsou zobrazeny na obrázcích 22 až 25, kde na osách X jsou vyneseny letokruhy stromu a na ose Y pak naměřené průměrné koncentrace sumy izomerů HCH ( $\Sigma$ HCH) na gram sušiny. Počítání letokruhů začalo od nejmladšího letokruhu po nejstarší, tedy od okraje po střed koláče. V případě olše lepkavé se tedy jednalo o letokruhy od 1. do 60. Na obrázku 26 je pak zpracován graf procentuálního zastoupení izomerů ve vzorcích olše lepkavé.

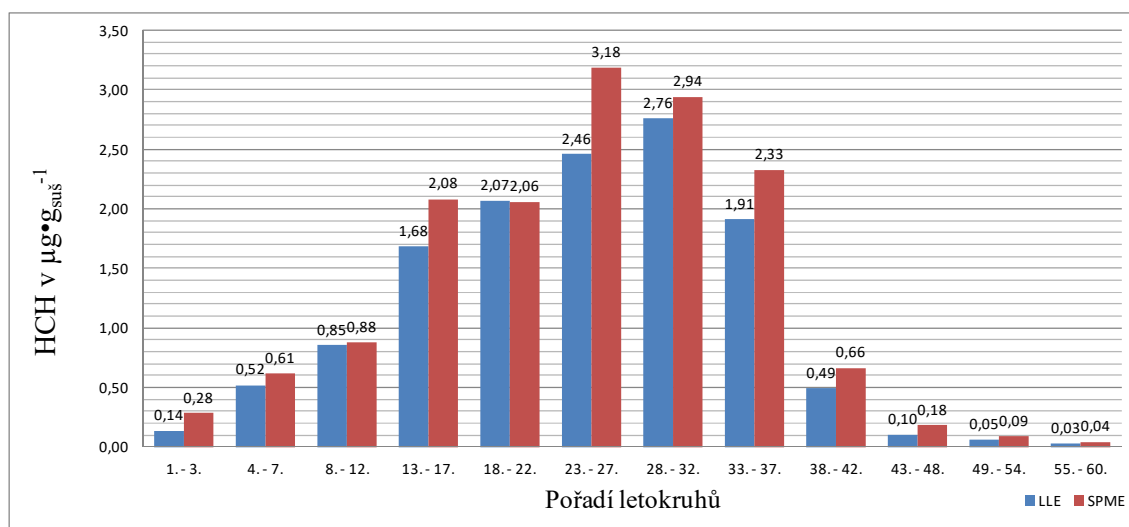
#### 4.4.1.1 Kvadrant SZ (olše lepkavá)



Obrázek 22 Kvadrant SZ (olše lepkavá)

Naměřená data z kvadrantu SZ ukázala nejvyšší koncentraci HCH o hodnotě 3,31 mikrogramů na gram sušiny (dále  $\mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ ) v letokruzích č. 28. až 32. Naopak nejnižší hodnoty koncentrace HCH byly zjištěny jak v nejmladší skupině letokruhů (1. až 3.), tak i v nejstarší skupině (55. až 60.). Ze získaných dat je patrný postupný růst koncentrací HCH směrem od kraje do středních letokruhů. Z grafu je zřejmé, že maximum je dosaženo v 28. až 32. letech a dále se postupně snižuje až do 55. až 60. letokruhu.

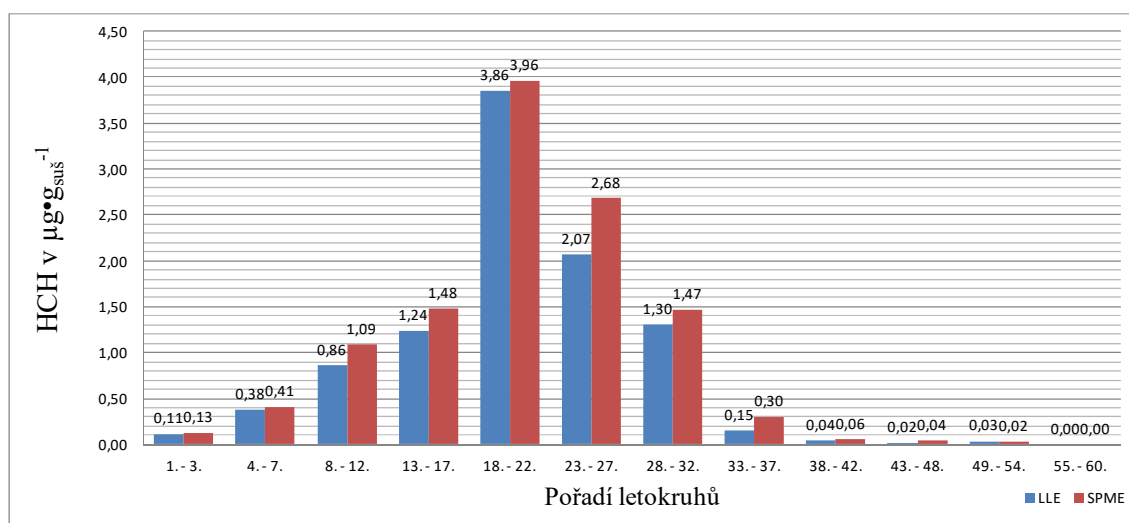
#### 4.4.1.2 Kvadrant JZ (olše lepkavá)



Obrázek 23 Kvadrant JZ (olše lepkavá)

Ze získaných dat v kvadrantu JZ byly naměřeny nízké hodnoty ve třech nejstarších skupinách letokruhů (43. až 60) a pak v nejmladší skupině letokruhů (1. až 3.), s tím že minimum se vyskytovalo v nejstarší části kmene stromu (55. až 60. letokruhy). Maximální koncentrace HCH v tomto kvadrantu JZ byly zjištěny v 23. až 27. letokruzích. Trend koncentrací je postupně rostoucí do maxima v 23. až 27. letokruzích a dále klesající až do nejstarších letokruhů. Nápadným jevem tohoto grafu jsou velice nízké hodnoty čtyř nejstarších skupin letokruhů, u kterých jsou pozorovány značně nižší naměřené koncentrace oproti předešlým pěti skupinám letokruhů.

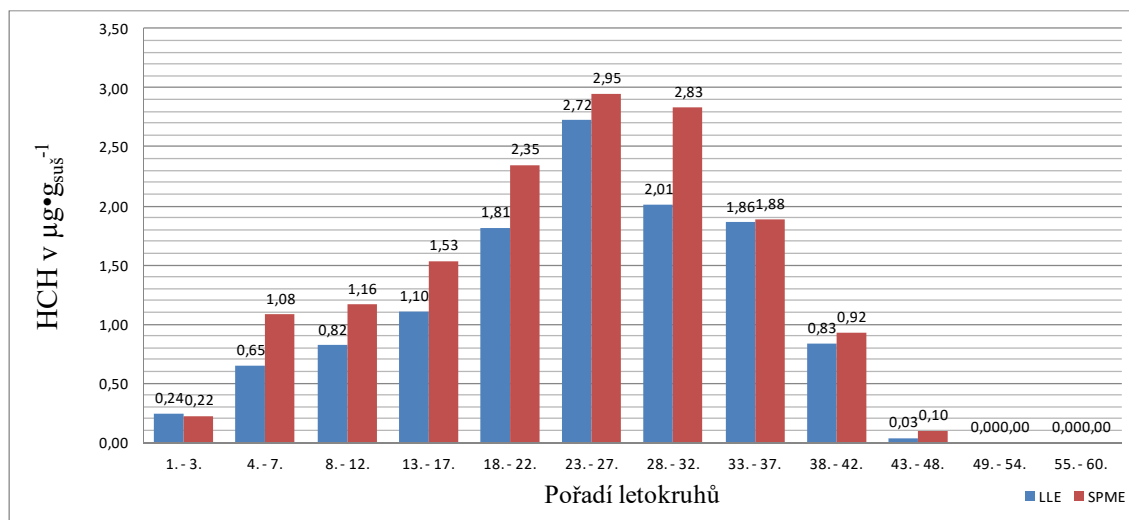
### 4.4.1.3 Kvadrant SV (olše lepkavá)



Obrázek 24 Kvadrant SV (olše lepkavá)

Co se týče kvadrantu SV u olše lepkavé, nejvyšší naměřená koncentrace byla zjištěna ve vzorcích z letokruhů 18. až 22. Nejnižší hodnota byla pozorována v nejstarší skupině letokruhů, kde nebyla zjištěna žádná přítomnost HCH nad mezí detekce. Velice nízké koncentrace byly naměřeny v letokruzích 38. až 60., tedy ve čtyřech nejstarších skupinách letokruhů. Trend grafu je rostoucí od nejmladších letokruhů (1. až 3.) po letokruhy 18. až 22., odkud hodnoty koncentrací již jen klesají až do svého minima v úplném středu kmene (letokruhy 55. až 60.).

#### 4.4.1.4 Kvadrant JV (olše lepkavá)



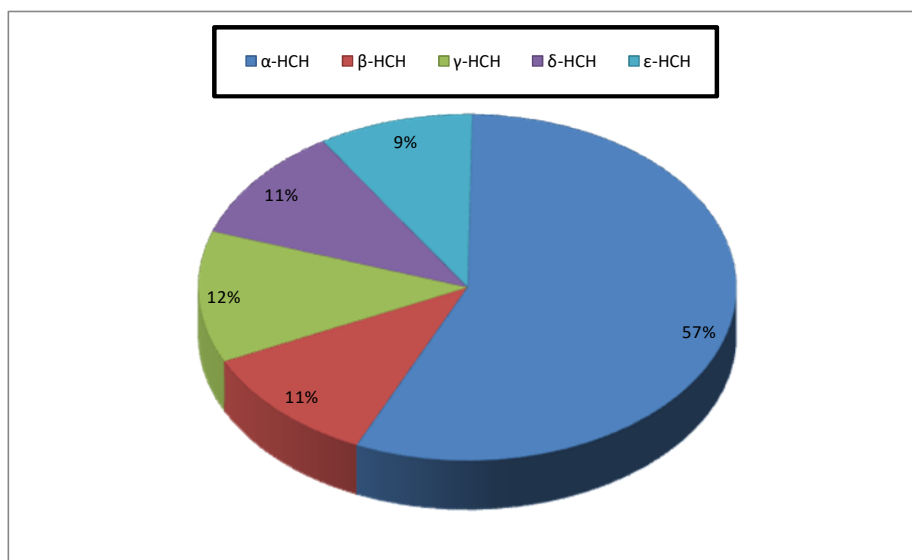
Obrázek 25 Kvadrant JV (olše lepkavá)

V kvadrantu JV olše lepkavé byla nejvyšší naměřenou koncentrací hodnota  $2,95 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$  v 23. až 27. letokruhu. Byly zjištěny dvě skupiny letokruhů s průměrnou koncentrací HCH pod mezí stanovitelnosti, a to v rozmezí 49. až 60. letokruhu. 43. až 48. letokruh také vykázal velice nízkou koncentraci HCH. Koncentrace HCH postupně narůstají od nejmladších letokruhů (1. až 3.) do 23. až 27. letokruhů, po kterých začne klesat až do nejstarších letokruhů. Tento kvadrant se od předešlého (SV) liší v poloze maximální naměřené průměrné koncentrace HCH. Letokruhy 33 až 42 nabývají značně vyšších hodnot než u kvadrantu předchozího (SV).



#### 4.4.1.5 Zastoupení izomerů HCH v biomase olše lepkavé

U olše lepkavé bylo detekováno všech pět sledovaných izomerů HCH. Jak je patrné z grafu na obrázku 26, tak dominantně vyskytujícím se izomerem v analyzovaných vzorcích biomasy olše lepkavé byl alfa izomer HCH, který dosáhl podílu - 57 %. Ostatní zbylé čtyři izomery ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  a  $\epsilon$ ) jsou zastoupeny téměř rovnoměrně (v rozmezí od 9 - 12 %).



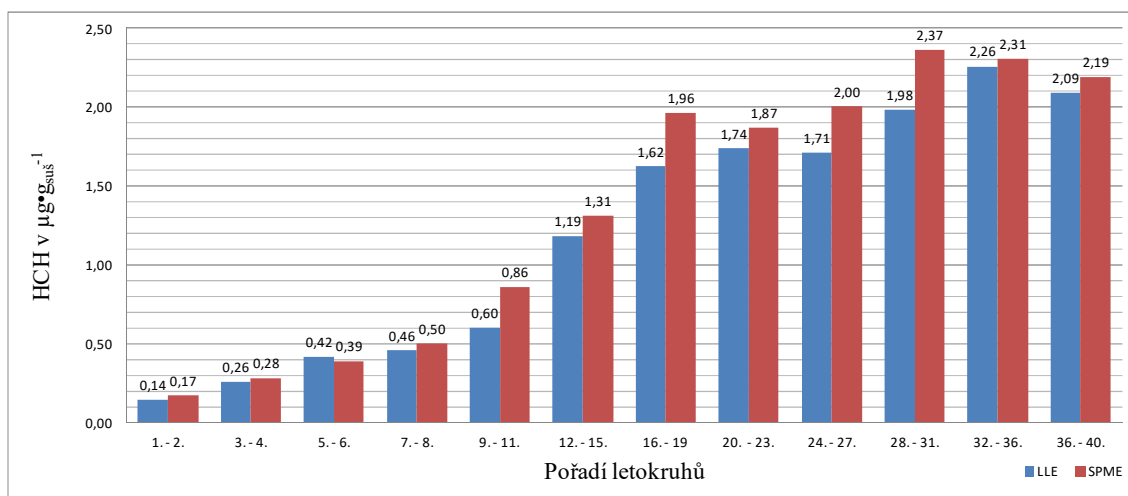
Obrázek 26 Procentuální zastoupení izomerů HCH ve vzorcích olše lepkavé

Chování izomerů v kvadrantech nebylo stejné pro všechny zkoumané izomery. Alfa a gama izomer HCH se nejvíce vyskytoval v kvadrantu JZ, kdežto nejvyšší koncentrace beta izomeru HCH byly zjištěny v kvadrantu JV. V kvadrantu SZ byly zjištěny nejvyšší koncentrace delta a epsilon izomeru HCH.

#### 4.4.2 Výsledky břízy bělokoré

V této kapitole jsou uvedeny zpracované výsledky z analýz biomasy břízy bělokoré pro jednotlivé kvadranty SZ, SV, JZ a JV. Obdobně jako u olše lepkavé, nejprve jsou ukázány obrázky s výsledky (obr. 27 až 30), kde jsou na ose Y vyneseny průměrné množství sumy HCH ( $\Sigma$ HCH) na gram sušiny a na ose X letokruhy stromu. Letokruhy jsou stejně jako u předešlého stromu počítány od nejmladšího letokruhu po nejstarší, tedy od okraje až po střed koláče. V případě břízy bělokoré se tedy jednalo o letokruhy od 1. do 40. Na obrázku 31 je pak zpracován graf procentuálního zastoupení izomerů ve vzorcích břízy bělokoré.

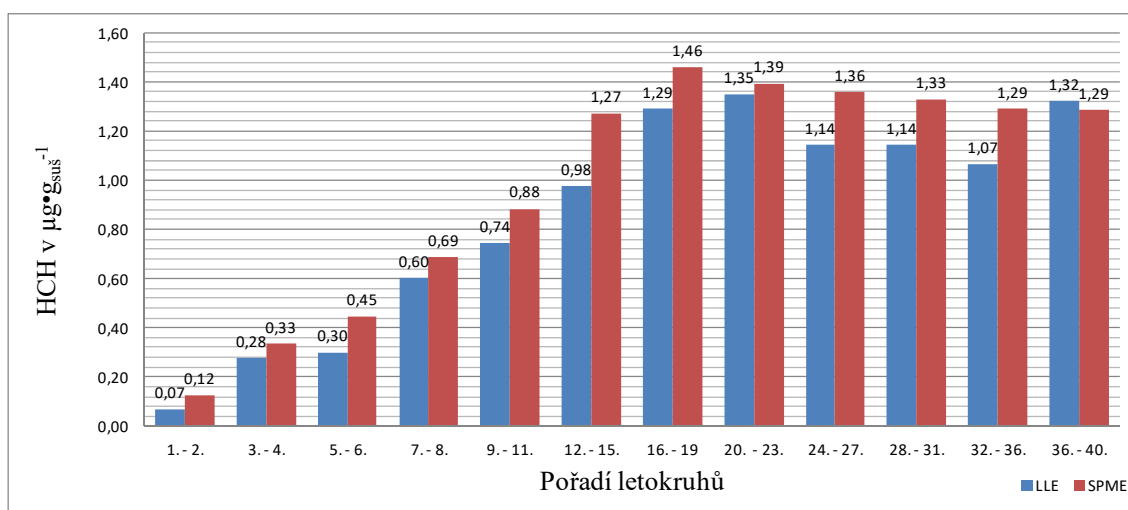
#### 4.4.2.1 Kvadrant SV (bříza bělokorá)



Obrázek 27 Kvadrant SV (bříza bělokorá)

Získané hodnoty z kvadrantu SV zpracované extrakční metodou LLE ukázaly nejvyšší hodnotu koncentrace HCH v letokruzích 32. až 36. Oproti tomu nejnižší hodnoty koncentrace byly zjištěny v nejmladších letokruzích 1. až 2., tedy na okraji kmene. Tento trend narušuje jediná hodnota koncentrace HCH, a to hodnota naměřená v nejstarší skupině letokruhů, v 36. až 40. letokruzích, kde byl zaznamenán mírný pokles.

#### 4.4.2.2 Kvadrant JV (bříza bělokorá)

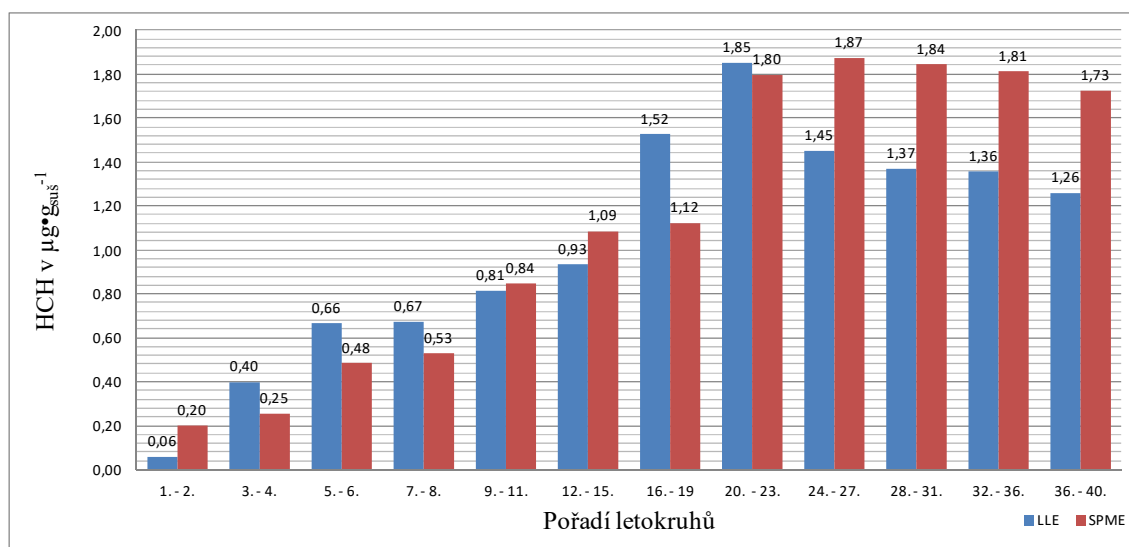


Obrázek 28 Kvadrant JV (bříza bělokorá)

V případě kvadrantu JV břízy Bělokoré byla maximální naměřená hodnota koncentrace HCH v 16. až 19. letokruzích, tedy v prostředních letokruzích. Oproti tomu minimum bylo zjištěno na

okraji kmene, tedy v letokruzích 1. až 2., stejně jako tomu bylo v předchozím kvadrantu SV. Hodnoty koncentrací HCH postupně rostou od nejmladších letokruhů až do jejich maxima v prostředních letokruzích, odkud začínají velmi mírně klesat až po nejstarší skupinu letokruhů. Tento kvadrant (JV) se liší od předešlého (SV) v poloze maximálních hodnot, zde byly zjištěny maximální hodnoty průměrné koncentrace HCH v 16. až 23. letokruzích, kdežto v předchozím kvadrantu se maximální hodnoty nacházely ve starších skupinách letokruhů.

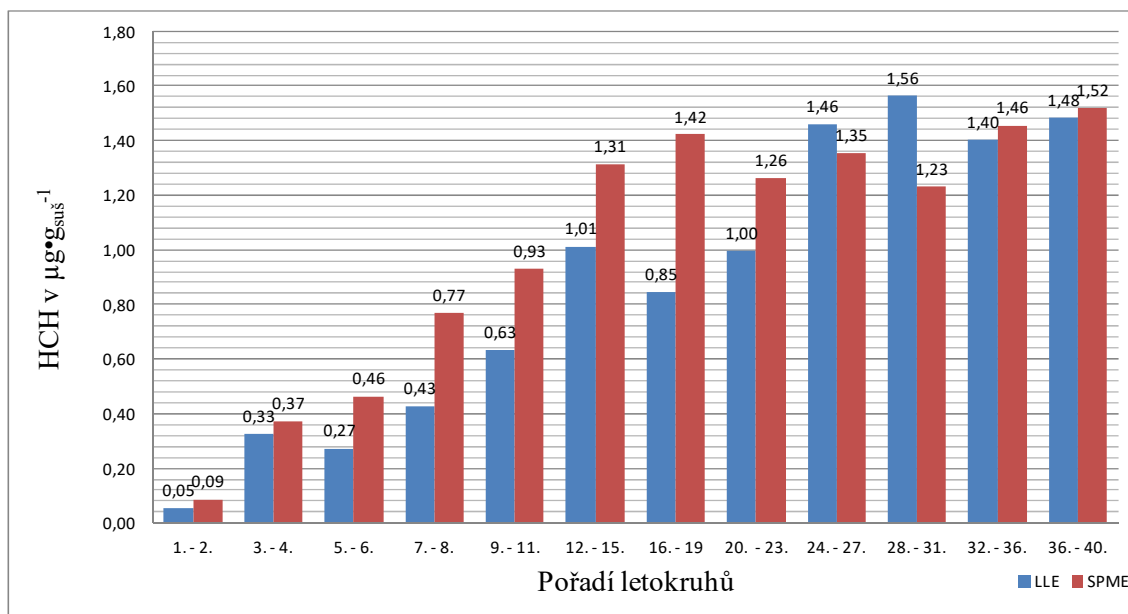
#### 4.4.2.3 Kvadrant SZ (bříza bělokorá)



Obrázek 29 Kvadrant SZ (bříza bělokorá)

V kvadrantu SZ břízy bělokoré byla u extrakční metody LLE nejvyšší naměřená koncentrace HCH přítomna v letokruzích 24. až 27. Oproti tomu nejnižší hodnota byla opět zjištěna na samotném okraji kmene, tedy v 1. až 2. letokruzích. Hodnoty mají i v tomto kvadrantu SZ od 1. až 2. letokruhu rostoucí trend, až po 24. až 27. letokruhy, odkud začínají hodnoty mírně klesat až do poslední skupiny nejstarších letokruhů.

#### 4.4.2.4 Kvadrant JZ (bříza bělokorá)

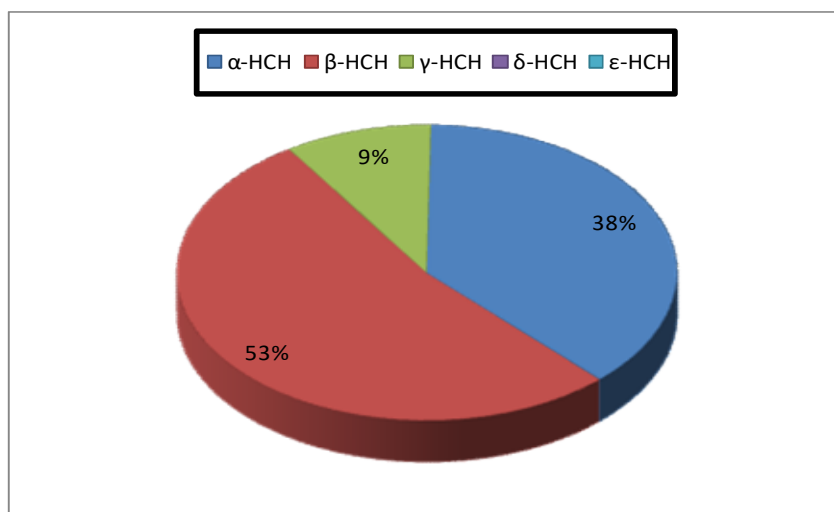


Obrázek 30 Kvadrant JZ (bříza bělokorá)

Výsledky analyzovaných vzorků z kvadrantu JZ stanovily nejvyšší hodnotu koncentrace HCH. Tato hodnota se vyskytovala v 28. až 31. letokruzích. Jako v předešlých kvadrantech (SZ, SV a JV) i v tomto kvadrantu JZ byla zjištěna nejnižší koncentrace HCH v nejmladší skupině letokruhů (1. až 2. letokruhy). Hodnoty koncentrací jsou nejnižší v nejmladších skupinách letokruhů, ovšem oproti předchozím kvadrantům je zde rostoucí trend více rozkolísaný a není zde patrný pokles u letokruhů 24. až 40.

#### 4.4.2.5 Zastoupení izomerů HCH v biomase břízy bělokoré

Z pěti sledovaných izomerů byly nad mezí stanovitelnosti zjištěny pouze tři a to konkrétně, beta izomer, alfa izomer a gama izomer. V případě břízy bělokoré byl dominantně vyskytujícím se izomerem v analyzovaných vzorcích beta izomer HCH a to s 53% zastoupením (viz obrázek 31). Druhým nejvíce zastoupeným izomerem ve vzorcích břízy bělokoré byl alfa izomer s 38% zastoupením a gama izomer doplňoval posledních 9 %.

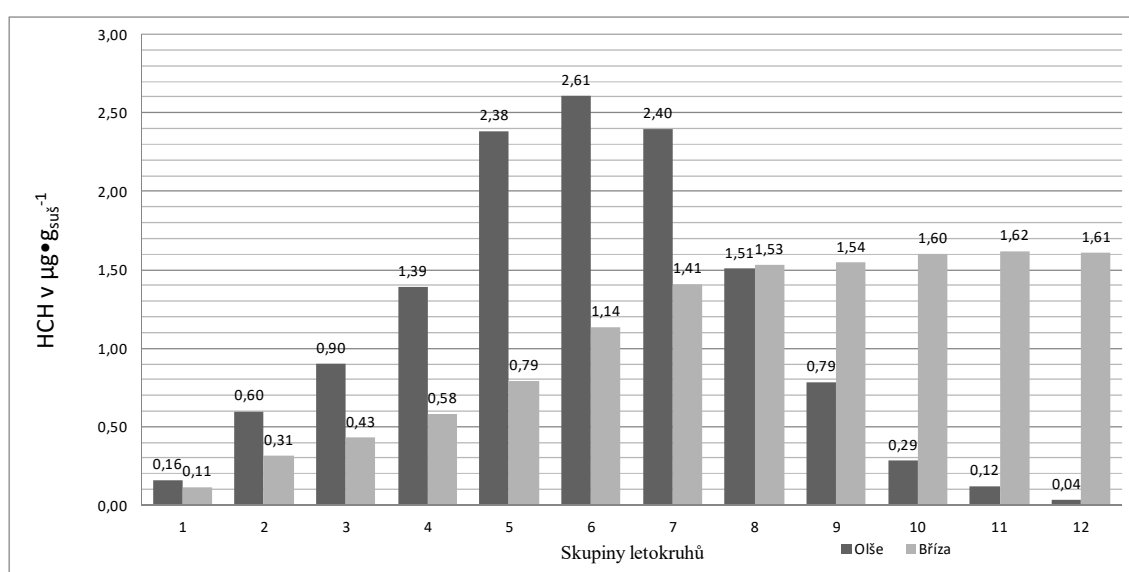


Obrázek 31 Procentuální zastoupení izomerů HCH ve vzorcích břízy bělokoré

Nejvyšší koncentrace alfa izomeru HCH byla zjištěna v kvadrantu SZ. V kvadrantu SV byly pak zjištěny nejvyšší koncentrace HCH pro zbylé dva izomery gama a beta. Beta a gama izomer se shodovaly v kvadrantu JZ, kde byla zjištěna jejich nejnižší koncentrace ze všech izomerů. Alfa izomeru bylo naměřeno nejméně v kvadrantu JV.

#### 4.4.3 Porovnání výsledků dřevin

V této kapitole jsou porovnány výsledky ze vzorků obou dřevin, olše lepkavé a břízy bělokoré. Porovnána je distribuce HCH napříč letokruhy, suma koncentrace HCH v letokruzích a přítomnost izomerů. Ze získaných dat je patrné, že se vzorky z olše lepkavé a břízy bělokoré lišily v distribuci HCH napříč letokruhy.



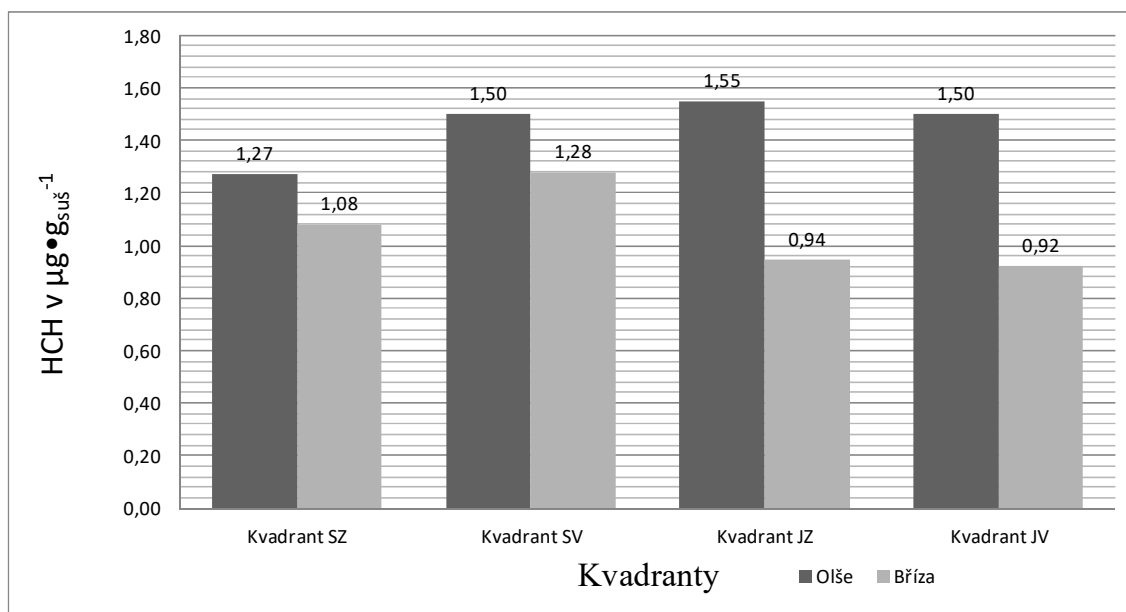
Obrázek 32 Průměrné koncentrace HCH napříč letokruhy u obou stromů

Tento graf porovnává průměrné koncentrace sumy izomerů HCH v letokruzích mezi olší lepkavou a břízou bělokorou. Do tohoto porovnání byly zahrnuty jak všechny kvadranty (SZ, SV, JV a JZ), tak obě extrakční metody přípravy vzorků (LLE a SPME). Jelikož počty letokruhů byly u stromů rozdílné, jsou letokruhy rozděleny do celkem dvanácti skupin. Skupiny jsou počítány od kraje kmene po střed, tedy od nejmladších letokruhů po nejstarší.

Průměrné koncentrace HCH u olše lepkavé dosahovaly maximálních hodnot v 5. až 7. skupině letokruhů, tedy především v prostředních skupinách letokruhů, kdežto průměrné koncentrace u břízy bělokoré dosahovaly nejvyšších hodnot ve starší polovině letokruhů, tedy v 7. až 12. skupině letokruhů. Oproti tomu nejnižší průměrné koncentrace sumy HCH se u olše lepkavé nacházely v nejmladší skupině letokruhů (1. skupina) a také v nejstarší skupině letokruhů (12. skupina). Vzorky z břízy bělokoré měly v každém kvadrantu i metodě nejnižší průměrnou koncentraci v nejmladší skupině letokruhů (1. skupina). Na rozdíl od olše lepkavé, vzorky z nejstarších letokruhů u břízy bělokoré obsahovaly obecně jedny z nejvyšších průměrných koncentrací sumy HCH.

Další jev, který můžeme pozorovat v grafech na obrázcích 22 až 25 a 27 až 30, jsou vyšší maximální koncentrace sumy HCH u olše lepkavé oproti bříze bělokoré. Například nejvyšší koncentrace sumy HCH napříč letokruhy byla u vzorků břízy bělokoré  $2,37 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$  (viz obrázek 27) a  $3,96 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$  u olše lepkavé (viz obrázek 24). Z grafu na obrázku č. 32 můžeme pozorovat, že výsledky olše lepkavé ukázaly vyšší průměrné koncentrace v 5. až 7. skupině letokruhů a značně nižší v ostatních letokruzích. Oproti tomu získaná data ukazují, že u břízy bělokoré byla suma HCH v jejích letokruzích více rovnoměrně distribuována.

Tento jev může být způsoben věkem stromů a také jádrovým dřevem. Na obrázku 19 můžeme pozorovat světlejší a tmavší dřevo. Tato tmavší část kmene mohla být jádrové dřevo, část kmene, která se vyvíjí s věkem stromu a ztrácí vodivou funkci. Odpovídaly by tomu nízké naměřené koncentrace v letokruzích, nacházející se právě v části z jádrového dřeva. Oproti tomu zkoumaná bříza bělokorá je mladší než zkoumaná olše, u břízy náznak jádrového dřeva není viditelný (viz obrázek 20).



Obrázek 33 Průměrná koncentrace sumy izomerů HCH v olši lepkavé a bříze bělokoré

Tento graf (obrázek 33) porovnává průměrné koncentrace sumy HCH ve všech kvadrantech u obou stromů. Do tohoto porovnání nebyly zařazeny výsledky těch letokruhů olše lepkavé, které zasahovaly do jádrového dřeva, jelikož dřevo v těchto kvadrantech ztratilo vodivou funkci a výsledky z těchto letokruhů by mohly znehodnotit porovnání průměrných koncentrací sumy HCH v kvadrantech obou dřevin. Nejvyšší průměrná koncentrace HCH ( $1,55 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ ) byla zjištěna u olše lepkavé, a to konkrétně v kvadrantu JZ. Oproti tomu nejnižší průměrná koncentrace HCH ( $0,92 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ ) byla naměřena u břízy bělokoré, a to v kvadrantu SV. Olše lepkavá obsahovala vyšší průměrné hodnoty HCH ve vzorcích než bříza bělokorá ve všech kvadrantech. Tyto rozdíly mohly být zapříčiněny tím, že olše lepkavá v průběhu života vyžaduje značně vyšší objem vody než bříza bělokorá. Nejmenší rozdíl mezi dřevinami byl zaznamenán v kvadrantu SZ ( $0,19 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ ) a největší rozdíl byl zjištěn v kvadrantu JZ ( $0,61 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ ).

Dalším rozdílem mezi vzorky obou dřevin bylo zastoupení jednotlivých izomerů HCH. Hlavní rozdíl byl u izomerů delta a epsilon. Zatímco u olše lepkavé epsilon (9 %) a delta (11 %) izomery zaujímaly dohromady 20 %, u vzorků z břízy bělokoré byly oba tyto izomery pod mezí stanovitelnosti. U olše lepkavé byl dominantní alfa izomer s podílem 57 %, kdežto u břízy bělokoré vykázal alfa izomer pouze 38% podíl a dominantním byl beta izomer se zastoupením 53 %.

#### 4.4.4 Porovnání výsledků metod LLE a SPME

Ze získaných dat je patrné, že oproti metodě LLE, byly hodnoty koncentrací izomerů HCH ve vzorcích zpracovaných metodou SPME obecně vyšší u obou dřevin. Tento rozdíl mezi oběma

extrakčními metodami nebyl ovšem konzistentní napříč kvadranty. Přestože hodnoty v daných letokruzích byly rozdílné, tato diference nebyla nikdy vyšší než  $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ , nejvyšší rozdíl byl zaznamenán u olše lepkavé  $0,82 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ , a to v kvadrantu JV (v letokruzích 28. až 32.). U břízy bělokoré byl nejvyšší rozdíl mezi metodami roven  $0,57 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$  v kvadrantu JZ, konkrétně v 16. až 19. letokruzích. Tyto rozdíly mohly být zapříčiněny rozdílným způsobem přípravy kalibrace. Zatímco v případě extrakční metody jsou standardy nadávkovány přímo do organického rozpouštědla, u metody SPME jsou standardy přidány k referenční matici a vodě.

Trendy naměřených hodnot koncentrací izomerů HCH byly ovšem velice podobné nezávisle na použité metodě, lze tedy říci, že obě extrakční metody spolu korelují.



## 5 Závěr

Přítomnost izomerů HCH byla potvrzena v dřevní hmotě jak olše lepkavé, tak i břízy bělokoré. Na základě provedených měření je patrné, že se hexachlorcyklohexan a jeho izomery chovaly rozdílně v těchto dvou zkoumaných dřevinách. Distribuce HCH tedy nebyla ve zkoumaných dřevinách uniformní. Z hlediska zastoupení izomerů HCH byly obě testované dřeviny také rozdílné. V případě olše lepkavé byl dominantním izomerem zjištěn alfa izomer, který vykázal více než poloviční podíl ze všech izomerů HCH. Ostatní izomery byly značně méně, ale rovnoměrně zastoupeny. Oproti tomu u břízy bělokoré byl dominantní beta izomer. Na rozdíl od olše lepkavé se hodnoty koncentrací delta a epsilon izomeru u břízy bělokoré nacházely pod mezí stanovitelnosti. Z těchto výsledků je patrné, že HCH a jeho izomery nebyly v dřevinách uniformně distribuovány.

U vzorků olše lepkavé byly zjištěny vyšší koncentrace sumy HCH v 18. až 32. letokruhu, tedy především ve středních letokruzích. Bříza bělokorá se v tomto ohledu lišila, vyšší koncentrace sumy HCH byly naměřeny v 16. až 40. letokruhu, tedy obzvláště ve starší polovině letokruhů. U olše lepkavé byly vyšší koncentrace HCH detekovány především v prostředních letokruzích, kdežto v jeho okrajových letokruzích byly pozorovány minimální hodnoty. Tento jev byl pravděpodobně zapříčiněn existencí jádrového dřeva u zkoumané olše lepkavé, jelikož jádrové dřevo ztratilo vodivou funkci a kontaminovaná voda již nemohla být do této části dřeviny transportována. Oproti tomu u břízy bělokoré byla zjištěna více rovnoměrná distribuce HCH napříč letokruhy, nižších hodnot nabývaly pouze nejmladší letokruhy. Tento jev byl pravděpodobně způsoben absencí jádrového dřeva u břízy bělokoré.

Nejvyšší průměrná koncentrace sumy HCH byla u olše lepkavé naměřena v kvadrantu JZ ( $1,55 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ ). Oproti tomu v kvadrantu SZ byly zjištěny nejnižší koncentrace sumy HCH. Je nutné poznamenat, že do tohoto porovnání byly v případě olše lepkavé zahrnuty pouze letokruhy, které se vyskytovaly v bělovém dřevu. U břízy bělokoré byla stanovena nejvyšší koncentrace sumy HCH u kvadrantu SV ( $1,28 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ ), kdežto nejnižší koncentrace sumy HCH byla přítomna v kvadrantu JV. U dřevin se tedy lišila poloha jak maximální průměrné koncentrace sumy HCH, tak poloha minimální průměrné koncentrace.

Gradient koncentrace HCH byl předpokládán od vysokých koncentrací na severozápadu k nižším koncentracím na jihovýchodu (jelikož gradient stejného směru byl předpokládán i v podzemních vodách). Ovšem naměřené koncentrace v kvadrantech u olše lepkavé se s tímto předpokladem neshodují. Rozdíl mezi hodnotami průměrné koncentrace sumy HCH v kvadrantu SZ a kvadrantu JV roven  $0,23 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{suš}}^{-1}$ , ve prospěch kvadrantu JV. Kvadrantem s nejvyšší průměrnou koncentrací sumy HCH byl kvadrant JZ, nikoliv hypotézou

předpokládaný kvadrant SZ. Můžeme tedy konstatovat, že se výsledky průměrných koncentrací sumy HCH v kvadrantech u olše lepkavé neshodovaly s předpokládaným gradientem.

U výsledků břízy bělokoré byla u obou severních kvadrantů (SV i SZ) naměřená vyšší průměrná koncentrace sumy HCH než u kvadrantů jižních. Kvadrantem s nejvyšší zjištěnou průměrnou koncentrací sumy HCH ( $1,28 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{sus}}^{-1}$ ) byl kvadrant SV a kvadrantem s nejnižší hodnotou byl kvadrant JV ( $0,92 \mu\text{g}\cdot\text{g}_{\text{sus}}^{-1}$ ). U břízy tedy můžeme sledovat mírný pokles hodnot koncentrací HCH od severozápadu k jihovýchodu, ovšem kvadrantem s nejvyšší průměrnou koncentrací sumy HCH nebyl předpokládaný JZ ale JV kvadrant.

U obou stromů metoda SPME nabývala obecně vyšších hodnot koncentrací sumy HCH než metoda LLE. U olše lepkavé byl nejvyšší rozdíl mezi hodnotami téměř 20 %, kdežto u břízy bělokoré 14 %. Tento jev lze vysvětlit rozdílným způsobem přípravy kalibrace.

Závěrem lze usoudit, že na základě výsledků provedeného výzkumu mohou být tyto dvě dřeviny použity k budoucím výzkumům kontaminovaných lokalit. Obě tyto dřeviny jsou rychle rostoucí a jsou hojně rozšířené na většině území Evropy, což je činí vhodnými kandidáty pro phytoscreening.

## 6 Zdroje

[1] CHEN G., Hexachlorocyclohexanes Including Lindane v Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), Academic Press 2014, str. 874-876, ISBN 9780123864550

[2] ARNIKA *Hexachlorcyklohexan (HCH)*. [online]. Copyright © 2014 Arnika [cit. 12.11.2020]. Dostupné z: <https://arnika.org/hexachlorcyklohexan-hch>

[3] VIJGEN J., P. C. ABHILASH, YI FAN LI, aj. Hexachlorocyclohexane (HCH) as new Stockholm Convention POPs—a global perspective on the management of Lindane and its waste izomer, 2010, str.152-153.

[4] KRISTINE L. WILLET, ELIN M. ULRICH, RONALD A. HITES, Differential Toxicity and Environmental Fates of Hexachlorocyclohexane Izomers, School of Public and Environmental Affairs and Department of Chemistry, Indiana University, 1998, str. 1-2.

[5] HAO CHEN, BIN GAO, SHENGSEN WANG, JUNE FANG, Microbial Degradation of Hexachlorocyclohexane (HCH) Pesticides, 2015, Strana 183

[6] YUANZHANG, SHIHUA QI, XINLIXING, aj. Legacies of Organochlorine Pesticides (OCPs) in Soil of China—A Review, and Cases in Southwest and Southeast China, Environmental Geochemistry (Second Edition), 2018, str. 543-565.

[7] WACŁAWEK S., SILVESTRI D., HRABÁK P. aj., Chemical oxidation and reduction of hexachlorocyclohexanes: A review, Water Research, 2019, Pages 302-319, ISSN 0043-1354.

Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135419305883#tbl2>

Citováno 5. 12. 2020.

[8] CHEMICALBOOK, 2017, odebráno 18.11.2020.

Dostupné z: [https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3676013\\_EN.htm](https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3676013_EN.htm)

[9] ATSDR, A. Ashizawa. 2005, strany 173-176

Dostupné z: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=754&tid=138>

[10] MINISTERSVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR, aktualizovaný národní implementační plán stockholmské úmluvy o perzistentních organických polutantech na léta 2012-2017, 2012, str. 80-82. Dostupné z:

[https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/strategicke\\_dokumenty\\_stockholmska\\_umluva/\\$FILE/OMV-NIP\\_S%C3%9A\\_2012-20160113.pdf](https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/strategicke_dokumenty_stockholmska_umluva/$FILE/OMV-NIP_S%C3%9A_2012-20160113.pdf)

Citováno 18. 11. 2020.

[11] GIRISH K., Kunhi M., African Journal of Microbiology Research. Microbial degradation of gamma-hexachlorocyclohexane (Lindane), 2013.

[12] NAYYAR N., Hexachlorocyclohexane: Persistence, toxicity and decontamination, 2014, str. 1.

[13] VIJGEN J, HCH and Lindane contaminated sites European and global need for a permanent solution for a long-time neglected issue, publikováno 2019, strana 696.

[14] BERÁNEK M., HAVEL M., Czech Ecological Society. International POPs Elimination Project, Lindane in the Czech Republic. 2006.

Dostupné z: [https://ipen.org/sites/default/files/documents/22ceh\\_Lindane\\_in\\_czech\\_republic-en.pdf](https://ipen.org/sites/default/files/documents/22ceh_Lindane_in_czech_republic-en.pdf)

Citováno 2. 11. 2020.

[15] INTEGROVANÝ REGISTR ZNEČIŠŤOVÁNÍ. MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ ČESKÉ REPUBLIKY.

Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20090507164337/http://www.irz.cz/latky/Lindan>

Citováno 6.3.2021.

[16] JONES K.C., VOOGT P. DE Persistent organic pollutants (POPs): state of the science, 1999, str. 199-200.

[17] BREIVIK K., Environmental Pollution 128, 2004, str. 3-4.

[18] KODAVANTI P.R.S., ROYLAND J.E., SAMBASIVA RAO K.R.S., Toxicology of Persistent Organic Pollutants, Reference Module in Biomedical Sciences, Elsevier, 2014.

[19] BESBELLI N., Hexachlorocyclohexane (mixed isomers) Inchem org. Dostupné z: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim257.htm#7.%20TOXICOLOGY>

Citováno 5. 11. 2020.

[20] WORLD HEALTH ORGANIZATION & INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. (1991). Lindane gamma-HCH: health and safety guide. World Health Organization.

Dostupné z: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41418>

Citováno 5. 11. 2020.

[21] SRIVASTAVA V., SRIVASTAVA T., KUMAR M. S., Fate of the persistent organic pollutant (POP)Hexachlorocyclohexane (HCH) and remediation challenges, International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 140, 2019, Pages 43-56.

Dostupné z <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830518312447>

Citováno 5. 11. 2020.

[22] ATSDR, PUBLIC HEALTH STATEMENT, Hexachlorocyclohexane, DEPARTMENT of HEALTH AND HUMAN SERVICES, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2005.

[23] EPA, technical Hexachlorocyclohexane (t-HCH)

Dostupné z: [https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance\\_nmbr=165](https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=165)

Citováno 5. 11. 2020.

[24] INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, WHO, 2015.

Dostupné z: [https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/pr236\\_E.pdf](https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/pr236_E.pdf)

Citováno 5. 11. 2020.

[25] ANN E. BRADLEY, JOANNA L. SHOENFELT, JUDI L. DURDA, Carcinogenicity and mode of action evaluation for alpha-hexachlorocyclohexane: Implications for human health risk assessment, Regulatory Toxicology and Pharmacology, Volume 76, 2016, Pages 152-173.

Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230015301422>

Citováno 5. 11. 2020.

[26] SANDU M. A., VIRSTA A., Environmental toxicity of Lindane and health effect, University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, 2015.

[27] LIU Y.F., Global technical hexachlorocyclohexane usage and its contamination consequences in the environment: from 1948 to 1997, 1999, The science of the total Environment, str. 134.

[28] EUROPEAN PARLIAMENT, Lindane (persistent organic pollutant) in the EU, 2016

Dostupné z:

[https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2016/571398/IPOL\\_STU\(2016\)571398\\_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2016/571398/IPOL_STU(2016)571398_EN.pdf)

Citováno 7. 11. 2020.

[29] VIJGEN J., Legacy of HCH, International HCH & Pesticides Association, 2006.

[30] HEŠNAUR L., JECH J., Řešení problematiky důlních vod z výsypky lomu Hájek, kontaminovaných uloženými odpady z výroby organochlorových insekticidů, DIAMO, s. p., o. z. SUL Příbram Dostupné z: <https://slon.diamo.cz/hpvt/2001/sekce/sanace/18/S18.htm>

Citováno 20. 11. 2020.

[31] BERÁNEK M., HAVEL M., Czech Ecological Society. International PoPs Elimination Project. PoPs Pesticides in the Czech Republic. Dostupné z:

[https://ipen.org/sites/default/files/documents/2ceh\\_pops\\_pesticides\\_in\\_czech\\_republic-en.pdf](https://ipen.org/sites/default/files/documents/2ceh_pops_pesticides_in_czech_republic-en.pdf)

Citováno 6.3.2021.

[32] SPOLANA. *Spolana* [online].

Dostupné z: <https://www.spolana.cz/CZ/Stranky/default.aspx>

Citováno 20. 11. 2020.

[33] Arnika *Spolana Neratovice*[online]. Dostupné z: <https://arnika.org/spolana-neratovice#hav%C3%A1rie>

Citováno 20. 11. 2020.

[34] Mapy.cz: [online] © Seznam.cz, a.s., odebráno 20.11.2020.

[35] ARNIKA *Výsypka lomu Hájek u Ostrova*. [online]. Copyright © 2014 Arnika [cit. 13.11.2020].

Dostupné z: <https://arnika.org/vysypka-lomu-hajek-u-ostrova>

Citováno 20. 11. 2020.

[36] BERÁNEK M., HAVEL M., Czech Ecological Society. International PoPs Elimination Project, Lindane in the Czech Republic. 2006. Dostupné z:

[https://ipen.org/sites/default/files/documents/22ceh\\_Lindane\\_in\\_czech\\_republic-en.pdf](https://ipen.org/sites/default/files/documents/22ceh_Lindane_in_czech_republic-en.pdf)

Citováno 20. 11. 2020.

[37] DIVÍŠEK J., CULEK M., JIROUŠEK M., MASARYKOVY UNIVERZITA, Informační systém Masarykovy univerzity, 2010, odebráno 23.11.2020

Dostupné z: [https://is.muni.cz/el/1431/jaro2010/Z0005/18118868/index\\_Bet\\_pen.html](https://is.muni.cz/el/1431/jaro2010/Z0005/18118868/index_Bet_pen.html)

Citováno 25. 11. 2020.

[38] BECK P.S.A., CAUDULLO G., RIGO d.D., *Betula pendula, Betula pubescens and other birches in Europe: distribution, habitat, usage and threats*, 2016. Dostupné z:

[https://www.researchgate.net/publication/299405431\\_Betula\\_pendula\\_Betula\\_pubescens\\_and\\_other\\_birches\\_in\\_Europe\\_distribution\\_habitat\\_usage\\_and\\_threats](https://www.researchgate.net/publication/299405431_Betula_pendula_Betula_pubescens_and_other_birches_in_Europe_distribution_habitat_usage_and_threats)

Citováno 25. 11. 2020.

[39] DURRANT T.H., CAUDULLO G., RIGO d.D., *Alnus glutinosa* in Europe: distribution, habitat, usage and threats, 2016. Dostupné z:

[https://www.researchgate.net/publication/299405377\\_Alnus\\_glutinosa\\_in\\_Europe\\_distribution\\_habitat\\_usage\\_and\\_threats](https://www.researchgate.net/publication/299405377_Alnus_glutinosa_in_Europe_distribution_habitat_usage_and_threats)

Citováno 25. 11. 2020.

[40] DIVÍŠEK J., CULEK M., JIROUŠEK M., MASARYKOVY UNIVERZITA, Informační systém Masarykovy univerzity, 2010, odebráno 23.11.2020. Dostupné z:

[https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/biogeogr\\_2/web/pages/index\\_Aln\\_glu.html](https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/biogeogr_2/web/pages/index_Aln_glu.html)

Citováno 25. 11. 2020.

[41] BURDA J., TUMAJER J., Využití dendrochronologie při inženýrsko-geologickém průzkumu svahových deformací Mostecké pánve, 2016. Dostupné z:

[https://www.researchgate.net/publication/339787601\\_Vyuziti\\_dendrochronologie\\_pri\\_inzenyrsko-geologickem\\_pruzkumu\\_svahovych\\_deformaci\\_Mostecke\\_panve](https://www.researchgate.net/publication/339787601_Vyuziti_dendrochronologie_pri_inzenyrsko-geologickem_pruzkumu_svahovych_deformaci_Mostecke_panve)

Citováno 25. 11. 2020.

[42] NOAA Earth System Research Laboratories (ESRL), odebráno 20.11.2012. Dostupné z:

[https://www.esrl.noaa.gov/gmd/education/info\\_activities/pdfs/PSA\\_tree\\_rings.pdf](https://www.esrl.noaa.gov/gmd/education/info_activities/pdfs/PSA_tree_rings.pdf)

Citováno 25. 11. 2020.

[43] OTTOSEN C.B., RØNDE V. aj., Phytoscreening for Vinyl Chloride in Groundwater Discharging to a Stream, 2018. Dostupné z:

[https://www.researchgate.net/publication/322731884\\_Phytoscreening\\_for\\_Vinyl\\_Chloride\\_in\\_Groundwater\\_Discharging\\_to\\_a\\_Stream](https://www.researchgate.net/publication/322731884_Phytoscreening_for_Vinyl_Chloride_in_Groundwater_Discharging_to_a_Stream)

Citováno 27. 11. 2020.

[44] BURKEN J., VROBLESKY D. A. aj., Phytforensics, Dendrochemistry, and Phytoscreening: New Green Tools for Delineating Contaminants from Past and Present, 2011. Dostupné z:

[https://www.researchgate.net/publication/51485636\\_Phytoforensics\\_Dendrochemistry\\_and\\_Phytoscreening\\_New\\_Green\\_Tools\\_for\\_Delineating\\_Contaminants\\_from\\_Past\\_and\\_Present](https://www.researchgate.net/publication/51485636_Phytoforensics_Dendrochemistry_and_Phytoscreening_New_Green_Tools_for_Delineating_Contaminants_from_Past_and_Present)

Citováno 27. 11. 2020.

[45] LIMMER M.A., BALOUET J.C., KARG F., VROBLESKY D.A., BURKEN J.G. Phytoscreening for Chlorinated Solvents Using Rapid in Vitro SPME Sampling: Application to Urban Plume in Verl, Germany. 2011

Citováno 27. 11. 2020.

[46] Kyle P.B. Toxicology: GCMS, in Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory, 2017

[47] VAS G., Biomedical sampling in Medical Applications of Mass Spectrometry, 2008

[48] NICHOLS L., CHEMISTRY LIBRETEXTS, Overview of Extraction  
Dostupné z:

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic\\_Chemistry/Book%3A\\_Organic\\_Chemistry\\_Lab\\_Techniques\\_\(Nichols\)/04%3A\\_Extraction/4.02%3A\\_Overview\\_of\\_Extraction](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_Lab_Techniques_(Nichols)/04%3A_Extraction/4.02%3A_Overview_of_Extraction)

Citováno 13. 10. 2020.

[49] SIGMA-ALDRICH CO., Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions, Bulletin 923

Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4547.pdf>

Citováno 13. 10. 2020.

[50] VAS G., VEKEY K., Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis, 2004.

[51] POUSTKA J. Izolační a separační metody - Jan Poustka, 2018, Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-2%20SPME\\_SBSE\\_MEPS-JP2018.pdf](https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-2%20SPME_SBSE_MEPS-JP2018.pdf)

Citováno 16. 10. 2020.

[52] KLOSKOWSKI A., PILARCZYK M., NAMIEŚNIK J. Membrane solid-phase microextraction--a new concept of sorbent preparation. 2009. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19653632/>.

Citováno 16. 10. 2020.

[53] MERKLE S., KLEEBERG K.K., FRITSCHÉ J., Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review, 2015

Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2227-9075/2/3/293/pdf>

Citováno 16. 10. 2020.



[54] KLOSKOWSKI A, PILARCZYK M, NAMIEŚNIK J. Membrane solid-phase microextraction--a new concept of sorbent preparation. Anal Chem. 2009

[55] MEYER V.R., CHROMATOGRAPHY | Principles, Encyclopedia of Analytical Science, 2013, str. 105-112.

[56] COSKUN O. Separation techniques: Chromatography. North. Clin. Istanbul, 2016, str. 156-160.

[57] NIKOLOVA I., Mgr. Oddělení ochrany čistoty ovzduší Český hydrometeorologický ústav, pobočka Ústí nad Labem, 2014.

Dostupné z: [http://physics.ujep.cz/~mkormund/P219/chromatograficke\\_metody\\_2014.pdf](http://physics.ujep.cz/~mkormund/P219/chromatograficke_metody_2014.pdf)

[58] HUALI ZAO, FENGQING YANG , Preparative Gas Chromatography and Its Applications Article in Journal of chromatographic science, April 2013

[59] STAUFFER E., DOLAN J.A., NEWMAN R., CHAPTER 8 - Gas Chromatography and Gas Chromatography—Mass Spectrometry, 2008, str. 235-293, ISBN 9780126639711.

[60] AN INTRODUCTION TO GAS CHROMATOGRAPHY, Taha M.S., October 2018

[61] GURLEEN KAUR, SAHIL SHARMA, Gas Chromatography – A Brief Review, 2018  
Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/344042922\\_Gas\\_Chromatography\\_-\\_A\\_Brief\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/344042922_Gas_Chromatography_-_A_Brief_Review)

Citováno 26. 10. 2020.

[62] NIKOLOVA I., Mgr. Oddělení ochrany čistoty ovzduší Český hydrometeorologický ústav, pobočka Ústí nad Labem, 2014

Dostupné z: [http://physics.ujep.cz/~mkormund/P219/chromatograficke\\_metody\\_2014.pdf](http://physics.ujep.cz/~mkormund/P219/chromatograficke_metody_2014.pdf)

Citováno 26. 10. 2020.

[63] SMITH W.R., Mass Spectrometry, Encyclopedia of Forensic Sciences (Second Edition), Academic Press, 2013, Pages 603-608, ISBN 9780123821669

Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123821652002506>

[64] GÜLAY BÜYÜKKÖROĞLU, DEVRİM DEMİR DORA, FILİZ ÖZDEMİR, CANDAN HIZEL, Omics Technologies and Bio-Engineering, Towards Improving Quality of Life, 2018, Pages 317-351, ISBN 9780128046593

Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/mass-spectrometry>

[65] ZACHAŘ P., SÝKORA D., ŠEVČÍK J.G.R. Plynová chromatografie, Plynová chromatografie a její aplikace v organické analýze, Katedra analytické chemie PřF UK, Albertov 2030, CZ-128 40 Praha 2

Dostupné z: [https://web.natur.cuni.cz/~sevcik/plyn\\_chrom.pdf](https://web.natur.cuni.cz/~sevcik/plyn_chrom.pdf)

Citováno 28. 10. 2020.

[66] HOLČAPEK M., Mass Spectrometry Group @ University of Pardubice  
Dostupné z: [https://holcapek.upce.cz/teaching/Mol\\_spek/Mol\\_spek\\_prednaska6\\_MS.pdf](https://holcapek.upce.cz/teaching/Mol_spek/Mol_spek_prednaska6_MS.pdf)

Citováno 28. 10. 2020.

[67] PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA, UNIVERZITA KARLOVA, Hmotnostní Spektrometrie. Dostupné z:

<https://web.natur.cuni.cz/sbv/soubory/t/rychlik/Spektrometrick%E9%20metody/MS/Hmotnostn%ED%20spektrometrie.ppt>

Citováno 28. 10. 2020.