



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

ANALÝZA SACHARIDŮ A MARKERŮ SPALOVÁNÍ DŘEVA V ATMOSFÉRICKÝCH AEROSOLECH

ANALYSIS OF SACCHARIDES AND MARKERS OF WOOD COMBUSTION IN ATMOSPHERIC
AEROSOLS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. NELA KUBÁTKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Pavel Mikuška, CSc.

BRNO 2011



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

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0492/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Nela Kubátková	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	RNDr. Pavel Mikuška, CSc.	
Konzultanti:	doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.	

Název diplomové práce:

Analýza sacharidů a markerů spalování dřeva v atmosférických aerosolech

Zadání diplomové práce:

1. Vypracování literární rešerše se zaměřením na analýzu sacharidů a markerů spalování dřeva v atmosférických aerosolech (PM)
2. Návrh analytické metody pro stanovení sacharidů a markerů spalování dřeva v PM (výběr rozpouštědla pro extrakci analytů z filtrů, výběr derivatizačního činidla, podmínky GC-MS detekce, ...)
3. Ověření a optimalizace navržené metody při analýze standardů sacharidů a markerů spalování dřeva (účinnost extrakce z filtrů, derivatizace, GC-MS detekce, ...)
4. Aplikace optimalizované metody při analýze sacharidů a markerů spalování dřeva v reálných vzorcích aerosolů (ověření účinnosti extrakce z filtrů, derivatizace a detekce, ...)
5. Odběr vzorků atmosférického aerosolu (různá roční období) ve velikostní frakci PM_{2,5}.
6. Stanovení sacharidů a markerů spalování dřeva v reálných vzorcích atmosférického aerosolu
7. Vyhodnocení výsledků (porovnání obsahu studovaných sloučenin v aerosolech pro různá roční období, vliv meteorologických podmínek na obsah sacharidů a markerů spalování dřeva, ...)

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2011

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

Bc. Nela Kubátková
Student(ka)

RNDr. Pavel Mikuška, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 15.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá analýzou sacharidů a markerů spalování dřeva a biomasy v atmosférickém aerosolu ve velikostní frakci $PM_{2,5}$. Teoretická část se zaměřuje na obecnou charakteristiku atmosférických aerosolů a na vlastnosti, zdroje a metody analýzy vybraných analyzovaných organických sloučenin.

Experimentální část se zabývá optimalizací metody pro společnou analýzu sacharidů a markerů spalování dřeva a biomasy v atmosférickém aerosolu. Optimalizace metody zahrnuje výběr vhodného rozpouštědla pro extrakci sloučenin a optimalizaci podmínek derivatizace a GC/MS analýzy. Optimalizovaná metoda byla poté použita pro analýzu sacharidů a markerů spalování dřeva a biomasy v reálných vzorcích atmosférického aerosolu frakce $PM_{2,5}$. Koncentrace analyzovaných sloučenin byly porovnány během ročních období.

ABSTRACT

Diploma thesis deals with the analysis of saccharides and markers of biomass and wood combustion in atmospheric aerosol, $PM_{2,5}$. Theoretic part is focused on general characterisation of atmospheric aerosols and on the properties, sources and analysis methods of selected analysed organic compounds.

The experimental part is focused on the optimization of method for simultaneous analysis of saccharides and markers of biomass and wood combustion. Optimization of method includes selection of solvent for the extraction of compounds and optimization of derivatization process and GC/MS analysis. The optimized method was then applied for the analysis of selected compounds in real aerosol samples in the size fraction $PM_{2,5}$. The concentrations of analysed compounds were compared in term of sampling seasons.

KLÍČOVÁ SLOVA

Atmosférický aerosol $PM_{2,5}$, sacharidy, markery spalování dřeva a biomasy, anhydridy monosacharidů, zdroje aerosolů

KEYWORDS

Atmospheric aerosol $PM_{2,5}$, saccharides, markers of biomass and wood combustion, monosaccharide anhydrides, aerosol sources.

KUBÁTKOVÁ, N. *Analýza sacharidů a markerů spalování dřeva v atmosférických aerosolech*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 94 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Pavel Mikuška, CSc..

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis diplomanta

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji tímto panu RNDr. Pavlovi Mikuškovi, CSc. za odborné a trpělivé vedení při vypracovávání mé diplomové práce.

Rovněž děkuji Ing. Kamilovi Křůmalovi, Ph.D. za ochotu a cenné rady při optimalizaci metody.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Atmosférický aerosol	8
2.1.1	Definice a původ	8
2.1.2	Velikostní distribuce částic	8
2.1.3	Vliv na životní prostředí a zdraví	10
2.1.4	Chemické složení atmosférického aerosolu	12
2.1.5	Vzorkování atmosférického aerosolu	12
2.1.5.1	Vzorkovací zařízení.....	13
2.1.5.2	Filtry	14
2.1.6	Analýza organických složek aerosolů	15
2.1.6.1	Extrakce.....	15
2.1.6.2	Derivatizace.....	18
2.1.6.3	Identifikace látek	19
2.2	Sacharidy	22
2.2.1	Vznik a výskyt sacharidů	22
2.2.2	Monosacharidy	24
2.2.3	Disacharidy.....	27
2.2.4	Alditoly.....	27
2.2.5	Analýza sacharidů	27
2.3	Emise ze spalování biomasy	29
2.3.1	Anhydridy monosacharidů	31
2.3.1.1	Analýza anhydridů monosacharidů	31
2.3.2	Markery spalování dřeva	33
2.3.2.1	Analýza markerů spalování dřeva	33
3	CÍL PRÁCE.....	35
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	36
4.1	Chemikálie	36
4.2	Vzorkování	38
4.3	Extrakce.....	41
4.4	Derivatizace.....	41
4.5	Identifikace technikou GC/MS.....	41
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	43
5.1	Optimalizace metody analýzy	43
5.1.1	Optimalizace GC/MS	43
5.1.2	Optimalizace derivatizace	43
5.1.2.1	Srovnání čisté derivatizační směsi a směsi s rozpouštědlem	43
5.1.2.2	Závislost účinnosti derivatizace na čase derivatizace	46

5.1.2.3	Vliv množství přidaného pyridinu na účinnost derivatizace.....	52
5.1.2.4	Srovnání derivatizačních směsí MSTFA a BSTFA	54
5.1.2.5	Stabilita derivátů analyzovaných sloučenin	57
5.1.2.6	Reprodukovatelnost derivatizace	59
5.1.3	Výběr rozpouštědla	60
5.1.4	Reprodukovatelnost metody.....	62
5.1.5	Mez detekce a mez stanovitelnosti.....	64
5.2	Analýza reálných vzorků.....	65
5.2.1	Charakterizace odběru reálných vzorků	65
5.2.2	Koncentrace analyzovaných sloučenin v aerosolu.....	67
5.2.3	Srovnání naměřených hodnot s literaturou.....	80
6	ZÁVĚR.....	81
7	SEZNAM ZKRATEK.....	82
8	SEZNAM LITERATURY	83
9	SEZNAM PŘÍLOH	88

1 ÚVOD

Měření znečištění ovzduší je v současné době nutností. Znečištění ovzduší má velký vliv na zdraví, na životní prostředí, klima, ekosystémy a je rovněž jednou z příčin koroze materiálů a eroze staveb. Je proto nutné toto znečištění sledovat, a to nejen v kritických místech jako jsou oblasti těžby a oblasti, ve kterých je koncentrován průmysl [1].

Každý rok je do atmosféry emitováno velké množství chemických látek a to jak po kvantitativní stránce, tak i z pohledu různorodosti emitovaných látek. Studium chemického složení atmosféry se datuje již od 18. století a je spojeno se jmény Joseph Priestley nebo Antoine Lavoisier [2].

Chemické látky se mohou v atmosféře vyskytovat buďto v plynné fázi, nebo adsorbované na pevné částice. Transport látek a jejich další osud v atmosféře je ovlivněn jejich fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Může tak dojít k jejich cirkulaci mezi ekosystémy nebo se mohou v atmosféře vyskytovat po tisíce let, jako je tomu u uhlovodíků.

Dle doby jejich setrvání v atmosféře je lze rozdělit na látky stálé, kterých je zde okolo 99 % obj., a na látky nestálé, které se v atmosféře nacházejí průměrně po dobu 9 dní. Tyto látky se v atmosféře účastní různých, zejména fotochemických reakcí, jejichž produkty mohou být často nebezpečnější, než samotné prekurzory [3].

K odstranění chemických látek vázaných v atmosférickém aerosolu dochází mokřým nebo suchým spadem, který je charakteristický zejména pro částice větších rozměrů. Těmito procesy dochází k „čištění“ atmosféry, ale následně také k okyselení půd, povrchových i podzemních vod, k narušení statiky budov, poškozování lesů a ke snížení zemědělské úrody.

Součástí atmosférického aerosolu jsou i sacharidy a markery spalování dřeva a biomasy, studované v této práci. Zatímco sacharidy jsou biogenní látky, důležité pro všechny živé organismy, markery spalování dřeva jsou látky mutagenní, karcinogenní, dráždící pokožku a zrak. V živých organizmech mohou být metabolickými procesy přeměněny na látky mnohem nebezpečnější [4]. Do atmosféry jsou sacharidy emitovány zejména z přírodních zdrojů (např. pylová zrna, výtrusy, přírodní požáry). Hlavním zdrojem markerů spalování dřeva je spalování biomasy (zejména dřevin) v rámci vytápění domácností.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Atmosférický aerosol

2.1.1 Definice a původ

Termín aerosol byl poprvé použit v roce 1920 v odborné meteorologické literatuře [3] a označuje soubor tuhých, kapalných nebo směsných částic o velikosti v rozsahu 1 nm - 100 μm , suspendovaných v atmosféře. Část atmosférického aerosolu je přírodního původu, zejména písečný prach nebo částice mořské soli. Dalším zdrojem jsou přírodní požáry a sopečná aktivita. Velké množství aerosolu je také produkováno lidskou činností, především spalováním lesních porostů, dopravou a veškerým průmyslem [5].

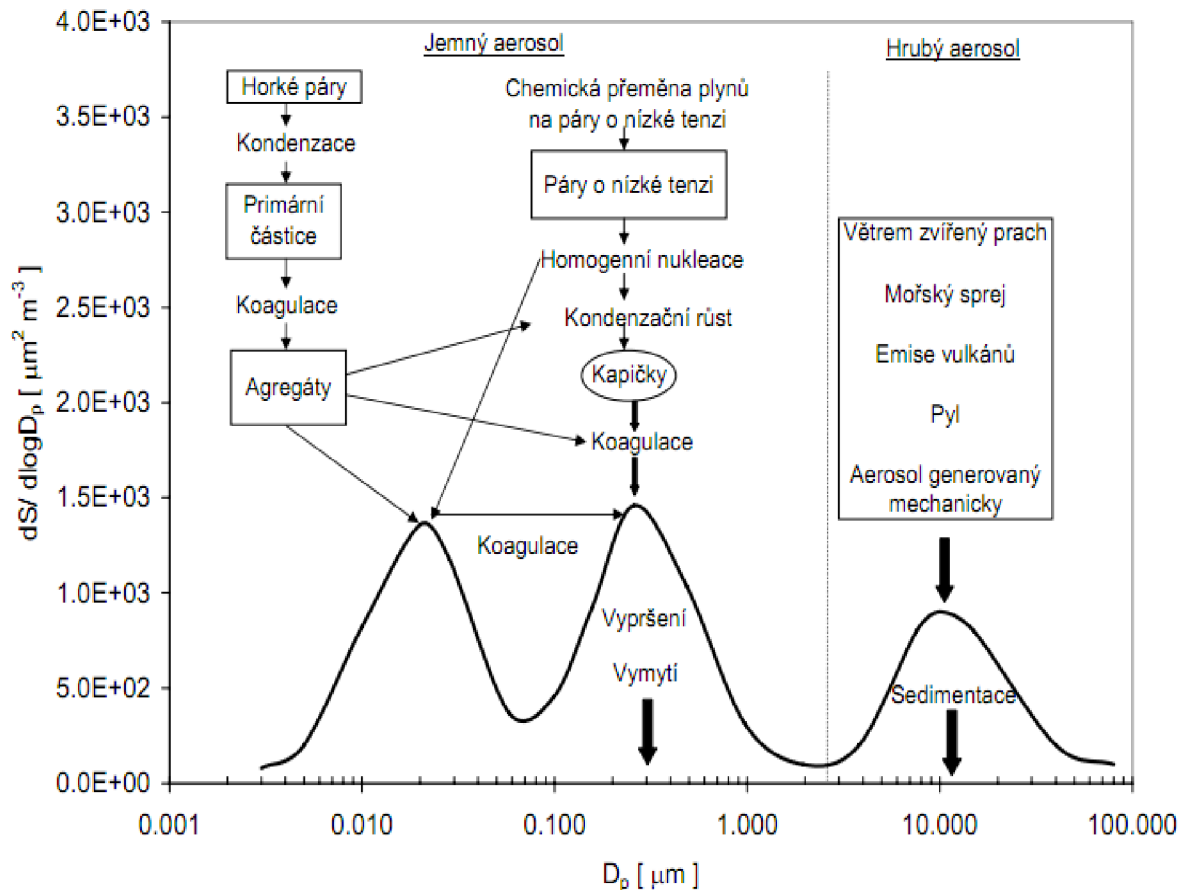
Podle původu rozlišujeme dva druhy atmosférického aerosolu: *primární* – kdy jsou částice aerosolu emitovány přímo ze zdroje, a *sekundární* – vznikající chemickou reakcí plynných prekursorů v atmosféře [6]. Plynné prekursory v atmosféře jsou oxidovány ozonem nebo radikály (NO_3^\bullet , OH^\bullet) za vzniku méně těkavých sloučenin, které se následně sorbují na aerosolech. Významným zdrojem OH^\bullet je fotolýza ozonu, HONO nebo HCHO [7]. Hlavní složkou sekundárního aerosolu jsou anorganické sloučeniny, zejména dusičnany a sírany (NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), vznikající reakcí kyselin s amoniakem. Tvoří až 80 % hmotnostní koncentrace sekundárního aerosolu.

Mezi důležité vlastnosti ovlivňující přítomnost aerosolů v atmosféře a jejich vliv na životní prostředí a zdraví patří koncentrace, chemické složení a optické vlastnosti. Nejdůležitější vlastností je však jejich velikost [6].

2.1.2 Velikostní distribuce částic

Velikost částic aerosolu se charakterizuje ekvivalentním průměrem, přesněji průměrem koule, která by měla stejné vlastnosti jako měřená částice. Nejčastěji se částice charakterizují aerodynamickým průměrem, což je průměr koule o hustotě 1000 kg/m^3 , která má stejnou sedimentační rychlost, jako námi měřená částice. Další z možností je charakterizace částice dle Stokesova průměru, tedy průměru koule, která má stejnou hustotu a sedimentační rychlost jako námi měřená částice [8].

Na **obrázku 3.1** je znázorněna trimodální distribuce částic, se dvěma mody (maximy) v oblasti jemných částic a jedním modem v oblasti částic hrubých. Do oblasti jemných částic jsou zahrnuty částice o rozměru do $2,5 \mu\text{m}$, v oblasti hrubých částic se pak vyskytují částice o velikosti nad $2,5 \mu\text{m}$. U *jemných částic* lze rozlišit mod nukleační (max okolo 20 nm) a mod akumulární (max okolo 300 nm). Částice nukleačního modu vznikají v důsledku vysokoteplotních procesů a fotochemických reakcí v atmosféře. Vzájemnou koagulací vytvářejí agregáty, které mohou koagulovat s částicemi akumulárního modu. Tyto částice tvoří převážnou část početní koncentrace atmosférického aerosolu a vznikají kondenzací plynů na již existujících částicích. Mod hrubých částic tvoří částice vzniklé mechanickými silami. Jedná se o prach vzniklý dopravní nebo průmyslovou aktivitou, který se do ovzduší dostává resuspenzí.



Obr. č. 3.1.: Velikostní distribuce částic

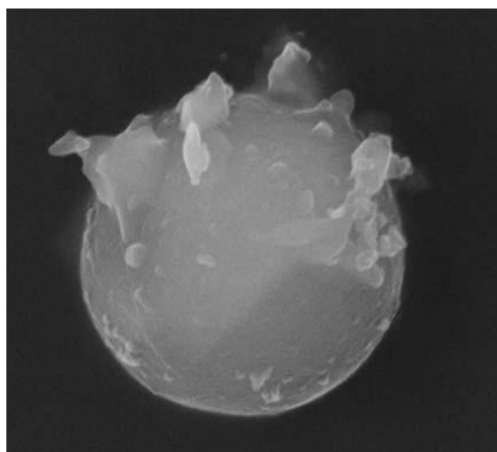
Na základě zjištění, že zdravotního riziko narůstá se snižující se velikostí částic, byly definovány velikostní frakce atmosférického aerosolu PM_{10} , $PM_{2,5}$ (obr. 3.2) a PM_1 .

Vzorek aerosolu PM_x pak představuje soubor částic, který je odběrovým zařízením separován s 50% účinností. Částice větší jak zvolený průměr jsou separovány s 100% účinností, zatímco částice menší než zvolený průměr separovány nejsou.

- ✓ PM_1 = aerosol s částicemi o aerodynamickém průměru menším než $1 \mu m$
- ✓ $PM_{2,5}$ = aerosol s částicemi o aerodynamickém průměru menším než $2,5 \mu m$
- ✓ PM_{10} = aerosol s částicemi o aerodynamickém průměru menším než $10 \mu m$ [6].

Částice o velikosti do 100 nm jsou označovány jako UF (ultrafine) [9], částice do velikosti 50 nm jsou označovány jako nanočástice. Soubor částic všech velikostních frakcí se označuje jako TSP (total suspended particles).

Aerosolové částice s největší pravděpodobností výskytu v ovzduší nabývají velikosti okolo $0,3 \mu m$. Vzroste-li koncentrace těchto částic do té míry, že hustota aerosolu je větší než 1% hustoty vzduchu, pak se soubor těchto částic jeví jako oblak. Jako dým se jeví aerosol z pevných částic, jejichž velikost je obvykle menší než $0,05 \mu m$. Jedná se o shluky částic vznikajících při vysokoteplotních procesech. Pokud jsou zde navíc přítomny kapalné částice, lze hovořit o tzv. kouři, který je důsledkem nedokonalého spalování [3].



Obr. č. 3.2.: Částice velikosti $PM_{2,5}$ [1].

2.1.3 Vliv na životní prostředí a zdraví

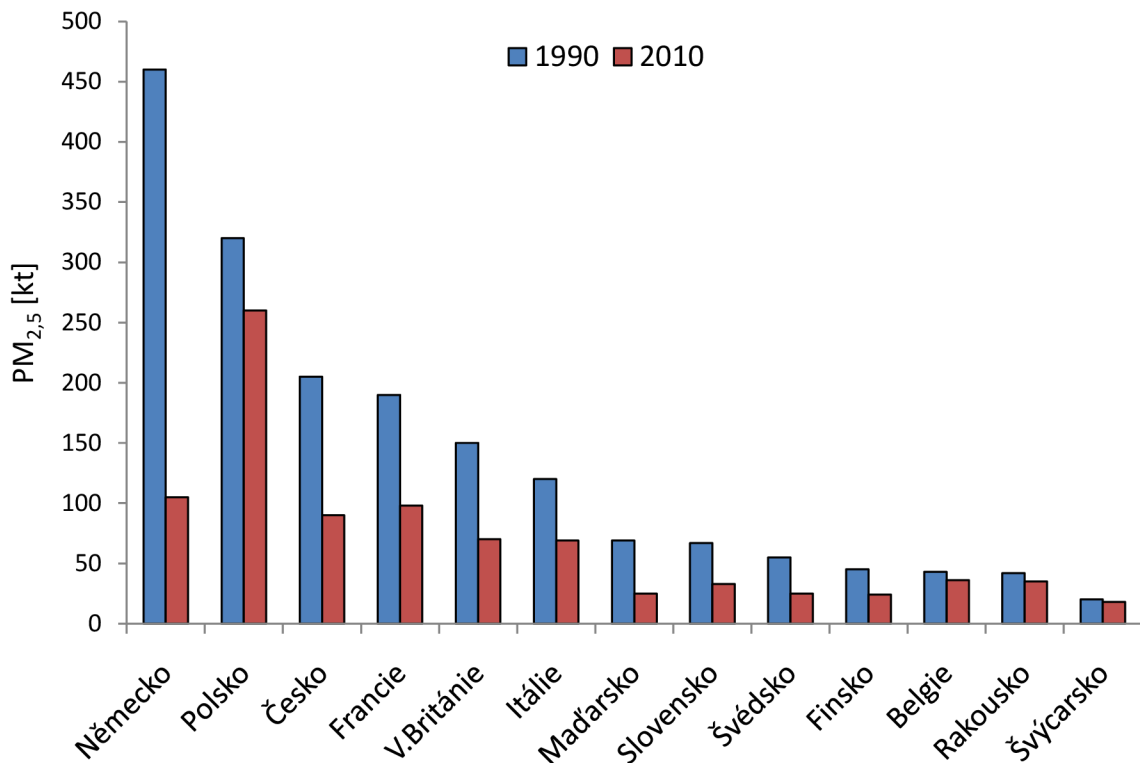
Atmosférický aerosol ovlivňuje klima, meteorologické pochody, viditelnost, je příčinou snížení pH půd, vody a nárůstu eutrofizace. Z těchto důvodů je nutné chemické složení atmosférického aerosolu důkladně sledovat [10].

Na pevných částicích v atmosféře dochází k rozptylu slunečního záření, jehož důsledkem je narušení radiální rovnováhy a snížení přízemních teplot. S rostoucím množstvím pevných částic v atmosféře roste počet kondenzačních jader, což má za následek zvýšený počet srážek.

Zvyšování koncentrací dusíkatých látek v atmosféře je jednou z příčin eutrofizace povrchových vod a půd. Vlivem přemnožení vodních řas a plevelů dochází k úhynu ryb či zemědělských plodin.

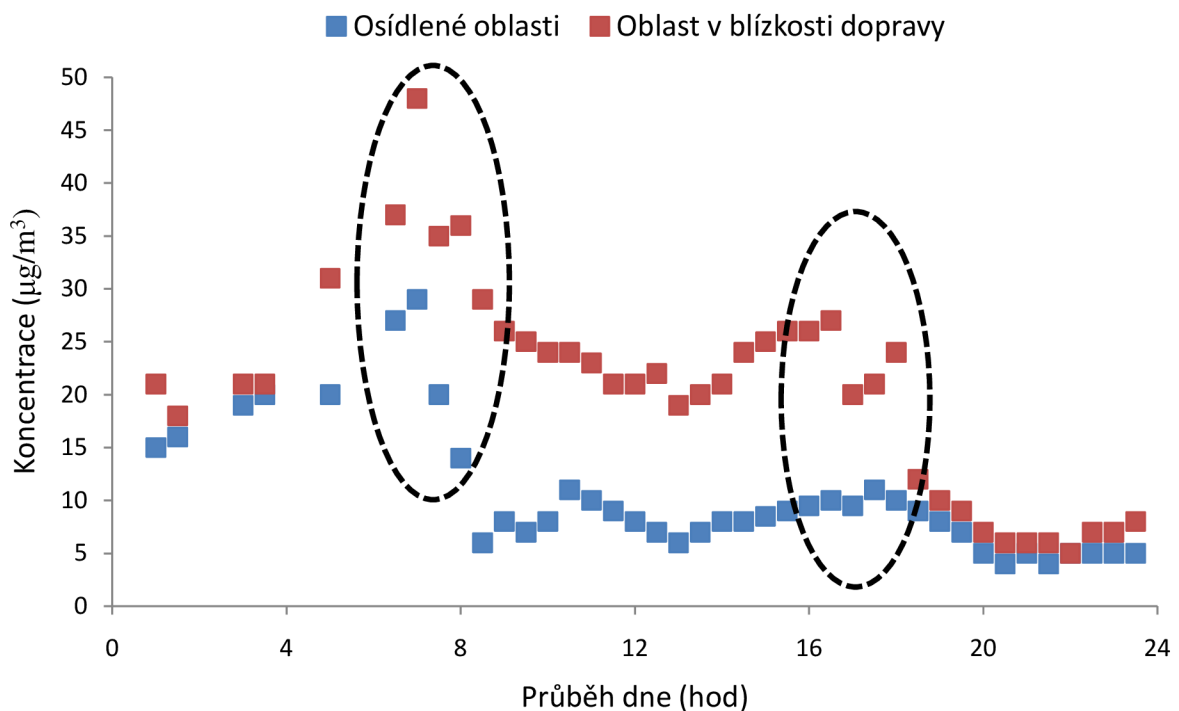
Důsledkem kyselých dešťů je pokles pH povrchových vod a půd. Dochází tak ke snížení úrodnosti půd a úhynu organismů, což má neblahý vliv na celé ekosystémy.

Epidemiologické studie rovněž zjistily vliv koncentrace a složení aerosolu na zdraví člověka [11]. Riziko představují zejména částice menších rozměrů, které jsou schopny transportu na velmi dlouhé vzdálenosti. Zatímco částice o větším rozměru (PM_{10}) jsou z velké části po vdechnutí zachyceny na sliznici nosu nebo v ústech [6], částice menší ($PM_{2,5}$; PM_1) se díky jejich malé velikosti mohou snáze dostat do hlouběji do dýchacího ústrojí. Výsledkem jsou pak zdravotní komplikace – astma, bronchitida nebo snížená funkčnost plic či poškození kardiovaskulárního systému [1]. Částice o velikosti do $2,5 \mu\text{m}$ se do ovzduší dostávají z velkého množství zdrojů, jak přírodních, tak i antropogenních [10]. Hlavním zdrojem těchto částic v atmosféře je spalování, doprava a průmysl. I přesto, že se emise těchto částic od roku 1990 výrazně snížily (**obr. č. 3.3**), zdravotní riziko přetrvává [12, 13].



Obr. č. 3.3.: Srovnání množství emisí pro rok 1990 a odhad pro rok 2010.

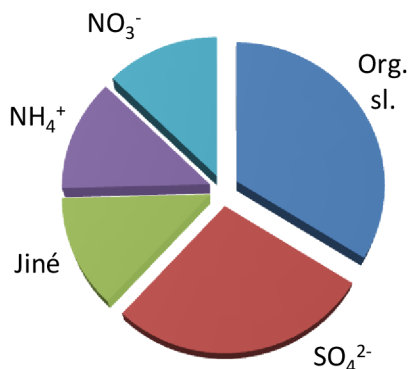
Množství částic v ovzduší závisí nejen na oblasti, kde jsou měřeny, ale rovněž na denní době. K nárůstu koncentrací částic dochází pravidelně v ranních a odpoledních hodinách vlivem zvýšené frekvence dopravy ve městech i mimoměstských lokalitách [14] (**obr. č. 3.4**).



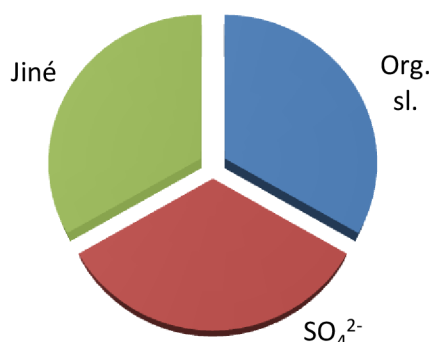
Obr. č. 3.4.: Koncentrace suspendovaných částic v závislosti na denní době

2.1.4 Chemické složení atmosférického aerosolu

Atmosférický aerosol je tvořen širokým množstvím látek z přírodních i antropogenních zdrojů. Nejkomplikovanější chemické složení má městský aerosol, což je dáno širokou škálou zdrojů a faktorů, které jej ovlivňují [6].



Obr. č. 3.5



Obr. č. 3.6

Obr. č. 3.5 a 3.6: Složení atmosférického aerosolu v urbanizované (3.5) a horské oblasti (3.6).

Atmosférický aerosol obsahuje jak organické, tak anorganické sloučeniny. Organická složka tvoří 10-70 % hmotnosti aerosolu. Běžně se označuje jako organický uhlík (OC) [4]. V urbanizovaných oblastech tvoří organické sloučeniny až 30% celkové hmotnosti aerosolu [15]. Další významnou součástí aerosolu je elementární uhlík (EC). Celkové množství uhlíku (TC) je pak dáno součtem elementárního a organického uhlíku [6].

Organickými látkami v aerosolech jsou zejména aromatické uhlovodíky, anhydridy monosacharidů, vyšší alkany nebo alkeny z antropogenních zdrojů, a terpeny nebo seskviterpeny ze zdrojů přírodních. Některé organické látky mohou být do ovzduší emitovány ze zdrojů antropogenních i přírodních. Organické sloučeniny jsou distribuovány mezi pevnou a plynnou fází v atmosféře. Distribuce látek mezi jednotlivé fáze je řízena tenzí par a teplotou.

Z anorganických látek jsou přítomny ionty, zejména dusičnany, sírany a amonium. Další anorganickou komponentou jsou kovy, které jsou vázány na povrch tuhých částic, a jejich transport je tak spojen s transportem aerosolů.

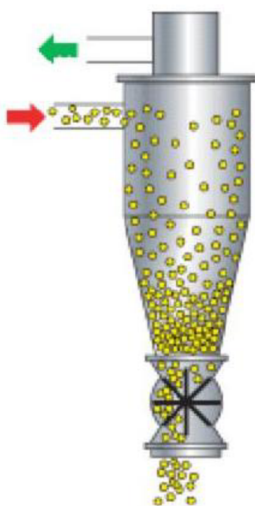
2.1.5 Vzorkování atmosférického aerosolu

Vzorkování je nejdůležitějším krokem identifikace chemického složení aerosolů. Cílem vzorkování je získání reprezentativního vzorku atmosférického aerosolu (dále PM). Při vzorkování nízkých koncentrací PM, je nutná delší doba vzorkování. S rostoucí dobou vzorkování ovšem mohou narůstat vzorkovací pozitivní a negativní artefakty. Pozitivní artefakty jsou důsledkem adsorpce organických sloučenin v plynné fázi nebo anorganických plynných polutantů na filtr nebo na již zachycené aerosoly. Záporné artefakty jsou způsobeny odpařováním těkavých aerosolových komponent (organické sloučeniny, NH₄NO₃...) z již zachycených aerosolů.

2.1.5.1 Vzorkovací zařízení

PM lze vzorkovat na filtry nebo na různé substráty (filtr, folie, membrána, ...) v kaskádových impaktorech.

PM lze vzorkovat na filtry bez výběru velikostí částic (tzv. TSP frakce), nebo lze vzorkovat pouze určitou velikostní frakci aerosolu (tj., PM_{10} , $PM_{2,5}$, PM_{10}). Velikostní frakce aerosolu je vybrána za použití selektivního inletu, který slouží k výběru požadované frakce tím, že separuje částice, které mají větší aerodynamický průměr, než je požadován. Inlety pracující na principu *impakce* jsou složeny ze sady kruhových nebo obdélníkových trysek. Částice s větší velikostí než je definovaný průměr (tzv. „cut-off“), v důsledku vyšší kinetické energie a setrvačnosti vylétají z dráhy proudu vzduchu a naráží na dno impakčního talíře, kde jsou zachyceny v tukové vrstvě, zatímco částice menší než daný cut-off jsou proudem vzduchu unášeny na filtr, kde jsou zachyceny. *Cyklonový inlet* (**obr. 3.7**) funguje na principu tangenciálního pohybu vzduchu. Při průchodu vzduchu inletem je částicím dodána dostředivá energie a dochází k nárazu větších částic než je definovaný průměr na stěny inletu a následně k dopadu do sběrného prostoru. Menší částice jsou proudem vzduchu unášeny a zachyceny na filtru [16].

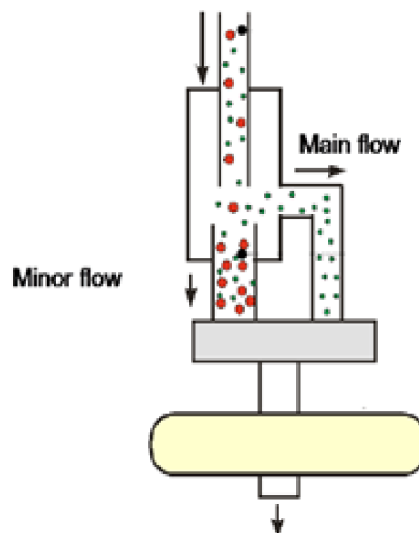


Obr. č. 3.7: Cyklonový inlet

Na principu impakce je založen kaskádový impaktor (**obr. 3.8**), složený z několika pater (např. Andersenův impaktor). Každé patro zajišťuje zachycení částic v daném velikostním intervalu. Dalším typem je *virtuální* impaktor (**obr. 3.9**), který se používá pro současné vzorkování dvou velikostních frakcí, nejčastěji PM_{10} a $PM_{2,5}$. Impakční plocha je zde nahrazena otvorem, který vede větší částice i s malým množstvím menších částic – separace je tak zatížena určitou chybou, na jeden substrát (většinou filtr), menší částice jsou pak díky své menší hybnosti proudem vzduchu odváděny na jiný substrát [16].



Obr. č. 3.8: Kaskádový impaktor



Obr. č. 3.9: Virtuální impaktor

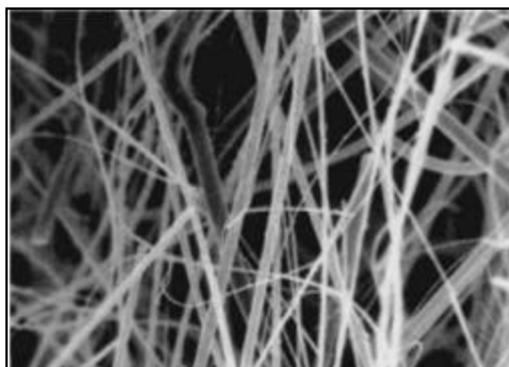
Často používanými zařízeními pro odběr aerosolu na filtr je vysokoobjemový vzorkovač Digitel nebo Sierra-Anderson. Oba využívají impaktorový inlet pro separaci velikostní frakce. Cyklonový separátor se používá u vzorkovače Critical Flow High Volume. Typické pro tento vzorkovač je použití obdélníkových filtrů o rozměrech $20,3 \times 25,4$ cm [17].

Pro menší objemy vzorkovaného vzduchu se používají středněobjemové (~ 100 l/min) a nízkoobjemové systémy (~ 20 l/min). Většina těchto systémů je plně automatizovaná a vyžaduje minimální dohled.

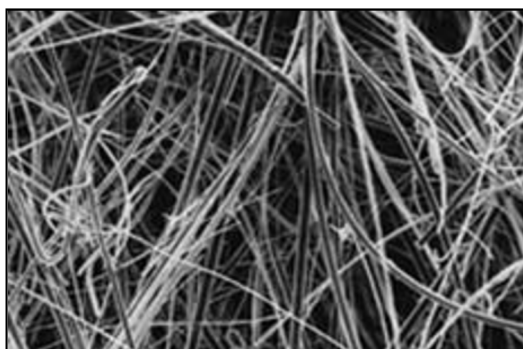
2.1.5.2 Filtry

Filtry jsou nejpoužívanějším médiem pro odběr atmosférického aerosolu. Filtry mohou být vláknité - skleněná (obr. 3.10) nebo křemenná vlákna (obr. 3.11), a membránové (obr. 3.12), z teflonových nebo nitrocelulosových membrán.

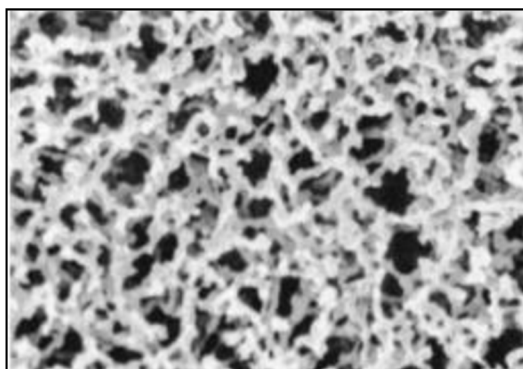
Filtry pro odběr PM jsou vybírány dle typu odebírané komponenty. Pro vzorkování organických sloučenin se používají filtry křemenné, zatímco pro vzorkování anorganických sloučenin jsou nejvhodnější teflonové nebo nitrocelulosové filtry. Dalšími faktory pro výběr filtru je jeho chemická stabilita a efektivita zachytu částic. Nevýhodou křemenných filtrů je jejich schopnost sorbovat organické látky, proto je nutné je před použitím vyčistit vyžháním v peci za vysokých teplot.



Obr. č. 3.10: Mikroskopický pohled na filtr tvořený skleněnými vlákny [16]



Obr. č. 3.11: Mikroskopický pohled na filtr tvořený křemennými vlákny [16]



Obr. č. 3.12: Mikroskopický pohled na membránový filtr [16]

2.1.6 Analýza organických složek aerosolů

2.1.6.1 *Extrakce*

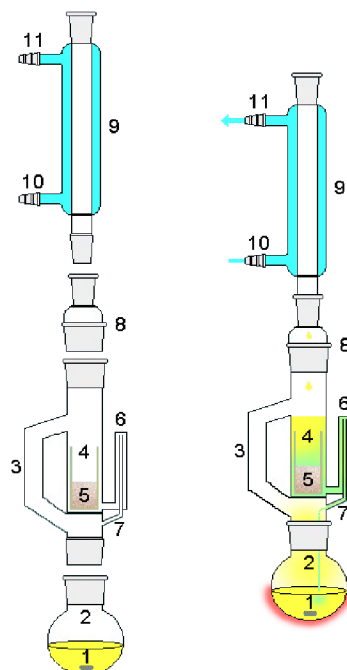
Extrakce je separační proces, při kterém dochází k přechodu analytu mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. K procesu dělení dochází na základě rozdílných rozdělovacích koeficientů. Čím jsou rozdělovací koeficienty odlišnější, tím je proces extrakce účinnější.

Extrakce je po vzorkování PM dalším kritickým krokem stanovení sloučenin vázaných na částice aerosolu. Důležitý je výběr vhodného rozpouštědla. Pro extrakce organických látek se používají organická rozpouštědla, jejichž hodnota polarity musí být přibližně shodná s hodnotou polarity analytu. Pro extrakce sacharidů a markerů spalování dřeva se používají polární rozpouštědla, převážně methanol, často v kombinaci s dichlormethanem [18, 19, 20, 21].

Mezi nejpoužívanější metody extrakce patří extrakce ultrazvuková (**obr. 3.14**), mikrovlnná extrakce (**obr. 3.15**), extrakce typu Soxhlet (**obr. 3.13**) nebo PSE – tlakem podporovaná extrakce (**obr. 3.16**).

Nejstarší metodou extrakce je metoda typu Soxhlet. Jedná se o metodu kontinuální extrakce. Vzorek je umístěn do extrakční patrony, která může být papírová nebo skleněná. Do baňky pod patronou je nalito vhodné rozpouštědlo, které je zahříváno na teplotu varu. Páry čistého rozpouštědla se ochlazují na chladiči a zkondenzované se dostávají do extrakční patrony se vzorkem. Jakmile je střední část extraktoru naplněna rozpouštědlem, vrací se přepadovou trubičkou zpět do baňky a proces extrakce se vždy s novou dávkou čistého rozpouštědla

mnohokrát opakuje. Po době nutné k dostatečnému vyextrahování analytu je extrakt zakonzentrován a dále zpracován pro analýzu. Jedná se o poměrně účinnou metodu. Její nevýhodou je však časová náročnost a velká spotřeba rozpouštědla.



Obr. č. 3.13: Extrakce typu Soxhlet – (1,2) – baňka s rozpouštědlem, (3) – odvod par rozpouštědla, (4,5) – extrakční patrona se vzorkem, (6,7) – přepadová trubice, (8) – redukce, (9) – chladič, (10) – přívod vody, (11) – odvod vody.

Ultrazvuková extrakce je metoda extrakce tuhé matrice rozpouštědlem pomocí ultrazvukových vln. Je založena na principu kavitačního jevu, kdy v důsledku působení ultrazvukových vln dochází k pohybu molekul rozpouštědla směrem k sobě a od sebe, přičemž dochází ke vzniku vzduchových – kavitačních bublin. Ty se mohou v mediu chovat dvěma způsoby. Buďto pouze oscilují (stabilní kavitace), nebo mohou měnit svou velikost a následně implodovat (kavitace přechodná). Při implozi dochází k nárůstu teploty a tlaku, což má za následek narušení struktury filtru a uvolnění organických látek do rozpouštědla. Důležitým parametrem je frekvence. Za nižší frekvence dochází snadněji k tvorbě bublin. Pokud by frekvence byla příliš vysoká, byla by komprese a dekomprese bublin natolik rychlá, že by se nevytvářely kavitační bubliny [22].



Obr. č. 3.14: Ultrazvukový extraktor

Mikrovlnná extrakce se používá již zhruba 25 let [23]. Jedná se o extrakci pevného vzorku kapalinou za pomoci mikrovln. Použitá rozpouštědla mohou být jak polární, tak nepolární, podle typu analytu, který chceme extrahovat. Mikrovlnnou extrakci lze provést dvěma způsoby:

- „pressurized“ MAE – použití uzavřené nádoby, za kontroly tlaku a teploty
- „focused“ MAE – použití otevřené nádoby za atmosférického tlaku



Obr. č. 3.15: Mikrovlnný extraktor

Pressurized solvent extraction (PSE), neboli tlakem podporovaná extrakce rozpouštědlem, je metoda extrakce tuhé matrice rozpouštědlem, prováděná za zvýšeného tlaku (10-15 MPa) a zvýšené teploty (50-200 °C). Zvýšená teplota a tlak jsou použity z důvodu zvýšení účinnosti a zkrácení extrakčního procesu. Roste-li teplota rozpouštědla, je důležité z důvodu zachování jeho kapalného stavu i zvýšení tlaku. Vzorky jsou vloženy do extrakční patrony, zbylý volný prostor v patroně je vyplněn vhodným materiálem (křemenná vata, písek). Patrona je naplněna rozpouštědlem, uzavřena a zahřívána na požadovanou teplotu. Po ukončení doby nutné pro extrakci je získaný extrakt uvolněn do sběrné nádoby a odebrán k dalšímu zpracování.



Obr. č. 3.16: PSE extraktor (AV ČR Brno)

2.1.6.2 Derivatizace

Proces derivatizace představuje cílenou přeměnu analytu chemickou reakcí s vhodným derivatizačním činidlem. Cílem derivatizace je získání derivátu analyzované sloučeniny o vhodných vlastnostech. Při použití techniky GC lze tak po derivatizaci analyzovat i sloučeniny, které jsou teplotně nestabilní, vysoce polární nebo málo těkavé [24].

Derivatizace dělíme dle probíhající reakce na silylaci, acylaci a alkylaci.

Silylace je nejpoužívanějším typem derivatizace. Výsledný derivát je teplotně stabilnější, těkavější a méně polární. Atomy vodíku hydroxylových skupin analytu jsou nahrazeny alkylsilylovou skupinou.

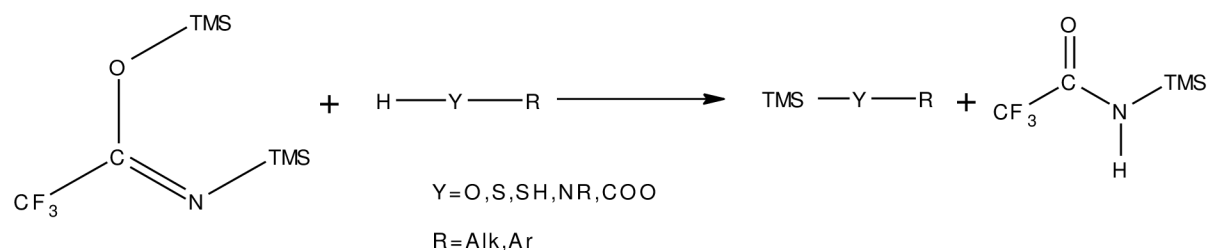
Jako derivatizační směs lze použít směs např. MSTFA (N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid) nebo BSTFA (N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid).

Procesem acylace se získávají deriváty stejných požadovaných vlastností jako u procesu silylace. Tato činidla jsou dostupná ve formě anhydridů kyselin nebo acyl derivátů.

Alkylací lze snížit polaritu analytu náhradou reaktivních vodíků alkylovou skupinou. Používá se pro derivatizaci karboxylových kyselin nebo fenolů. Alkylové deriváty vykazují vysokou stabilitu.

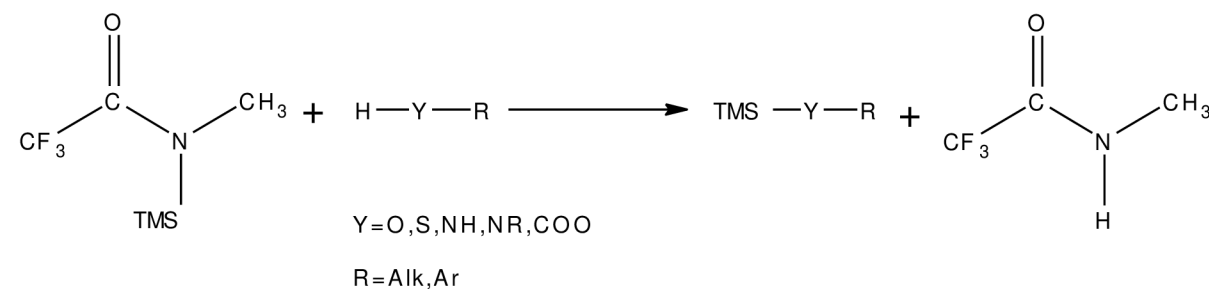
Pro derivatizaci sacharidů se používá silylace pomocí BSTFA nebo MSTFA.

BSTFA se používá ve směsi s 1% TMCS (trimethylchlorosilan), který slouží jako katalyzátor reakce.



Obr. č. 3.17: Proces silylace směsi BSTFA + 1% TMCS

MSTFA se rovněž používá v kombinaci s 1% TMCS.



Obr. č. 3.18: Proces silylace směsi MSTFA + 1% TMCS [25]

2.1.6.3 *Identifikace látek*

Pro stanovení organických látek obsažených v atmosférickém aerosolu se využívají plynová chromatografie, kapalinová chromatografie, elektroforéza a jejich spojení s hmotnostním spektrometrem [26]. Nejpoužívanější analytickou metodou pro analýzu sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva je plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostním spektrometrem [27].

Plynová chromatografie je separační metoda založená na distribuci analytu mezi dvě navzájem nemísitelné fáze – plynou mobilní, a stacionární fází. Analyt se separuje v koloně na základě rozdílné afinity vůči těmto fázím. Je tak získán chromatogram znázorňující intenzitu signálu v závislosti na čase. V plynové chromatografii se používají velmi často kolony kapilární, kde je stacionární fáze chemicky vázána na vnitřní stěnu kapiláry.

Analyt vstupuje do plynového chromatografu přes injektor. Nástřik analytu se provádí pomocí speciální injekční stříkačky přes septum. Součástí injektoru je v případě *split/splitless* metody nástřiku skleněná vložka – *liner*, ve které dochází k rychlému odpaření analytu a jeho dostatečnému promíchání s mobilní fází. V případě *split* nástřiku je do kolony vnesena jen určitá část analytu. Při stopové analýze se využívá metoda *splitless*, kdy je do kolony zaveden celý objem vzorku.

Mobilní fází je tzv. nosný plyn, nejčastěji vodík, helium nebo dusík. Nosný plyn musí být inertní, aby nedocházelo k chemické přeměně analytu.

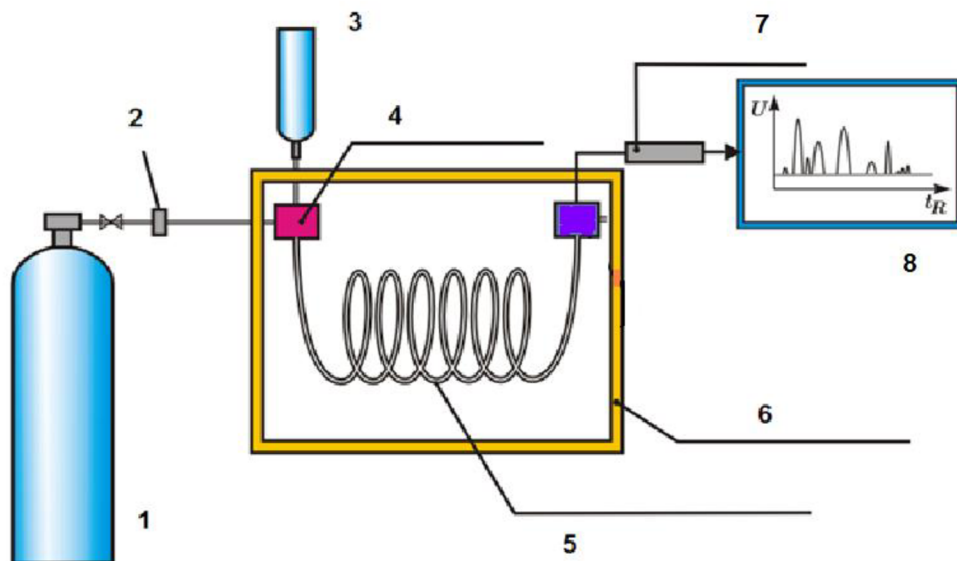
Používanými detektory v plynové chromatografii jsou tepelně vodivostní detektor (TCD), plamenově ionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD) a hmotnostní spektrometr (MS).

Tepelně vodivostní detektor obsahuje elektricky žhavené vlákno, přes které prochází nosný plyn. Při průchodu analytu dojde ke změně vodivosti a tím i odporu. V detektoru je přítomno ještě srovnávací vlákno, přes které prochází pouze čistý nosný plyn.

V *plamenově ionizačním detektoru* se molekuly plynu ionizují v kyslíkovodíkovém plameni a vedou ionizační proud mezi elektrodami. Přítomnost analytu zvýší ionizaci a tím elektrický proud.

V *detektoru elektronového záchytu* jsou molekuly dusíku ionizovány β zářením, jehož zdrojem je zářič ^{63}Ni . Dochází k uvolnění tzv. pomalých elektronů (vzniká ionizační proud), které jsou zachyceny elektronegativními atomy analytu a tím tento ionizační proud snižují.

Hmotnostní spektrometr (MS) v kombinaci s plynovou chromatografií (**obr. č. 3.19**), je v dnešní době dostupnou a hojně využívanou metodou pro analýzu organických sloučenin vázaných v atmosférických aerosolech. Tato metoda kombinuje vysokou separační schopnost plynového chromatografu a vysoce citlivou a specifickou detekci v MS, umožňující získání informace o struktuře neznámé látky. Mobilní fází je helium, z důvodu nutnosti dosáhnout co nejnižšího pozadí.



Obr.č. 3.19: Schéma GC/MS – (1) nosný plyn, (2) regulátor průtoku nosného plynu, (3) vzorek, (4) nástřik vzorku a přívod nosného plynu, (5) chromatografická kolona, (6) termostat pro výhřev kolony, (7) MS detektor, (8) chromatogram.

Hlavními částmi hmotnostního spektrometru je iontový zdroj, analyzátor a detektor.

V iontovém zdroji jsou získávány ionty a fragmenty analytu. Používají se tvrdé nebo měkké ionizační techniky. Ve spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií se využívá zejména ionizace elektronová a chemická.

Elektronová ionizace je nejběžnější metodou. Jedná se o tvrdou ionizační techniku. Molekuly analytu jsou ionizovány proudem elektronů, které jsou emitovány ze žhaveného rheniového nebo wolframového vlákna. Směr elektronů je určován přítomnou anodou. Vzniklé ionty jsou z prostoru iontového zdroje vypuzeny elektrickým polem pomocí repeleru (elektroda).

Chemická ionizace je typem měkké ionizační techniky. Primárním zdrojem energie je rovněž proud urychlených elektronů, který ionizuje molekuly analytu zprostředkovaně přes medium, kterým je reakční plyn (nejčastěji methan). Vzniklé reakční kationty poté interagují s molekulou analytu.

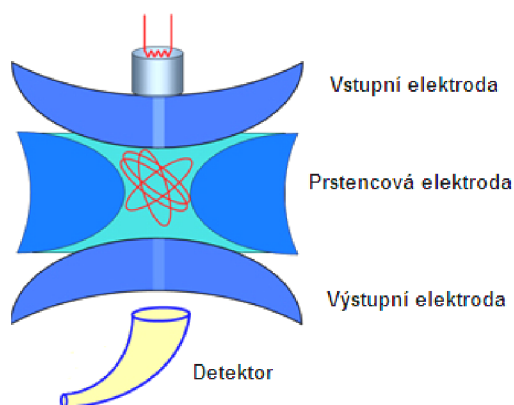
Ionty a fragmenty vzniklé procesem ionizace jsou analyzovány hmotnostním analyzátozem dle poměru jejich hmotnosti a náboje (m/z). Používanými analyzátozem v systému GC/MS jsou kvadrupol, iontová past nebo TOF (analyzátozem doby letu).

Kvadrupol (obr. č. 3.20) tvoří čtyři kovové tyče, hyperbolického nebo kruhového průřezu, které jsou připojeny ke zdrojům stejnosměrného a střídavého napětí. Ionty, které vletí do prostoru analyzátozem, se dostanou do střídavého elektrického pole a začnou oscilovat. Při vhodném poměru stejnosměrné a střídavé složky napětí projdou k detektoru pouze ionty určitého poměru m/z . Poměr střídavého a stejnosměrného napětí se postupně mění a jsou tak detekovány ionty různých m/z [28].



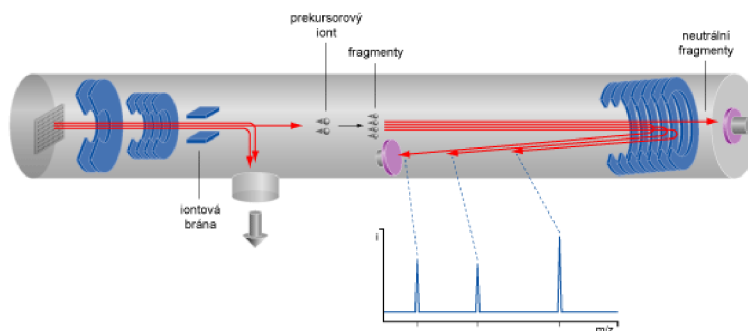
Obr. č. 3.20: Kvadrupol

Iontová past (obr. č. 3.21) se skládá ze tří elektrod, vstupní a výstupní elektrody kruhového průřezu a prstencové středové elektrody. Krajiní elektrody jsou uzemněny, na středovou elektrodu je přiváděno vysokofrekvenční napětí s proměnnou amplitudou. Ionty analytu jsou zadržovány v prostoru iontové pasti a pohybují se po kruhových drahách. Do prostoru iontové pasti je zaváděno helium, plnicí funkci tzv. tlumícího plynu, který zajišťuje zadržení iontů v prostoru pasti. Při změně amplitudy, se ionty určitého poměru m/z pohybují k detektoru.



Obr. č. 3.21: Iontová past

TOF analyzátor („time of flight“) je nejjednodušším hmotnostním analyzátozem (obr. č. 3.22). K rozdělení iontů dochází na základě jejich odlišné doby letu od iontového zdroje k detektoru. Ionty s vyšší hmotností se pohybují pomaleji a k detektoru dorazí za delší časový úsek.



Obr. č. 3.22: *TOF* analyzátor

Detektory používanými v hmotnostní spektrometrii jsou *elektronové násobiče*, využívající efekt násobení elektronů, které jsou uvolňovány po dopadu iontů na stěnu dynody.

2.2 Sacharidy

Sacharidy patří společně s lipidy, proteiny a nukleovými kyselinami mezi nejrozšířenější přírodní látky - biomolekuly. Jedná se o látky zajišťující hlavní zdroj energie pro organizmy, energie se uvolňuje při oxidaci glukosy v průběhu biochemických procesů. Dále zauímají funkci zásobních látek, např. škrob a glykogen a jsou rovněž součástí nukleových kyselin, hormonů a koenzymů. V neposlední řadě jsou základní stavební jednotkou rostlinných tkání, např. celulóza a chitin [29]. Sacharidy jsou významnou součástí atmosférického aerosolu, v němž tvoří 13-26 % všech stanovovaných sloučenin, a tato hodnota může narůst až na 63 % u oceánského aerosolu. Podávají rovněž informace o zdrojích a transportu biologicky významných organických materiálů v životním prostředí [18].

2.2.1 Vznik a výskyt sacharidů

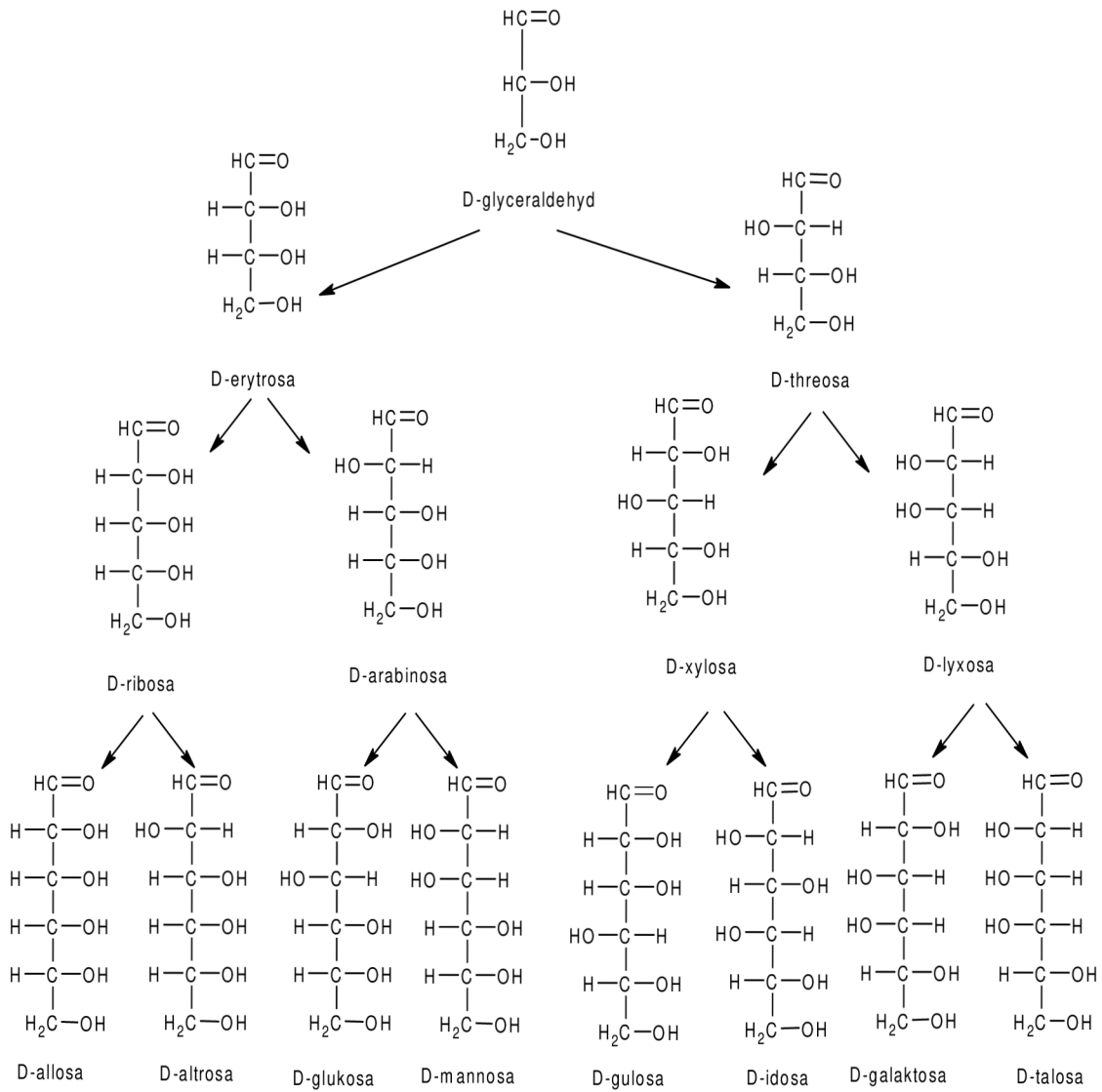
Sacharidy jsou syntetizovány autotrofními organizmy procesem fotosyntézy. Heterotrofní organizmy jsou schopny z necukerných prekurzorů rovněž syntetizovat sacharidy, jedná se o proces glukoneogeneze, probíhající v játrech a ledvinách. Fotosyntézou je získávána glukosa, ostatní monosacharidy jsou tvořeny vzájemnou interkonverzí, kterou je změna počtu uhlíku, spočívající v přenosu uhlíkových štěpů z jednoho monosacharidu na druhý. Schéma odvození aldosa a ketosa je zobrazeno na **obrázku č. 3.23 a 3.24**.

Sacharidy jsou do atmosféry emitovány z různých zdrojů. Zdrojem primárních sacharidů jsou rostliny a živočichové, zatímco cukerné alkoholy jsou produkovány houbami, lišejníky a bakteriemi procesem redukce monosacharidů [30].

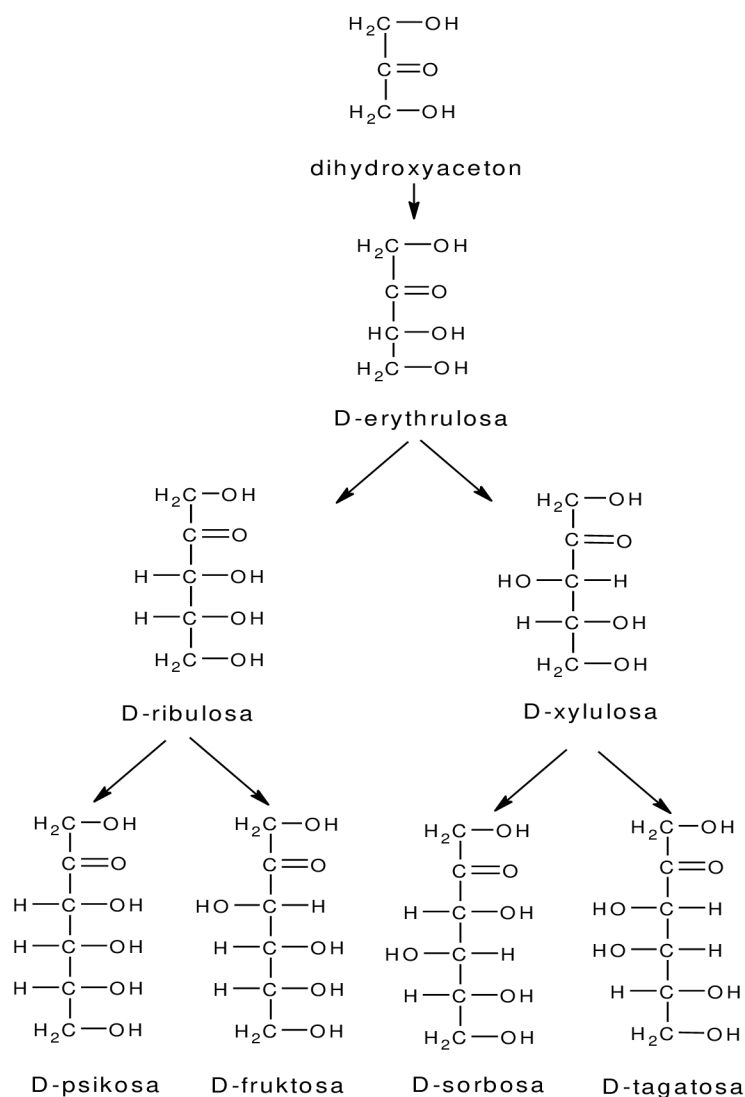
Sacharidy jsou rovněž hlavní složkou organického materiálu v půdě. Půda je směsí organických a anorganických látek, přičemž hlavní podíl organické složky je tvořen zbytky odumřelých rostlin, dále pak mikrobiálními zbytky nebo lipidy. Rostlinné zbytky podléhají časem vlivem mikroorganismů a chemických reakcí degradaci a jsou tak zdrojem minerálů v půdě. Do atmosféry se sacharidy z půd dostávají resuspenzí [31].

Přítomnost sacharidů v aerosolu je sledována v městských, venkovských i v přímořských lokalitách. Pro oblasti mírného podnebí jsou typické zanedbatelné koncentrace sacharidů, v období zimních měsíců, zatímco maximum je detekováno koncem jara a začátkem léta [31].

Podle velikosti molekuly je možné sacharidy rozdělit do tří hlavních skupin. Nejmenší a nejjednodušší jsou monosacharidy, které jsou základní stavební jednotkou složitějších sacharidů - oligosacharidů, které jsou tvořeny 2-10 monosacharidovými jednotkami a dále polysacharidů, tvořených více jak 10 monosacharidovými jednotkami [32].



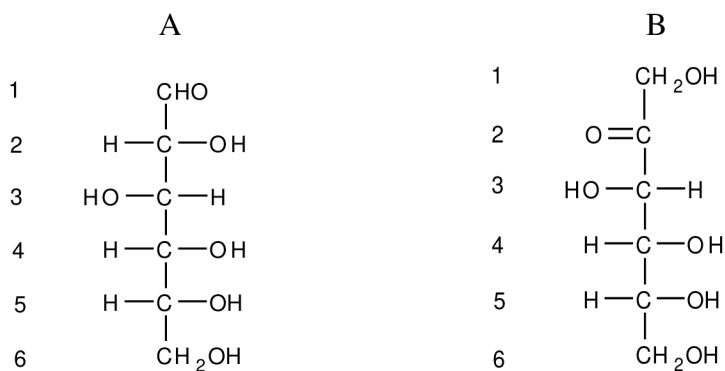
Obr. č. 3.23: Odvození aldós [30]



Obr. č. 3.24: Odvození ketos [30]

2.2.2 Monosacharidy

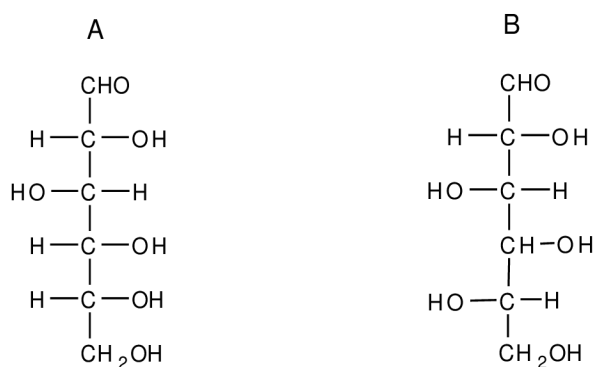
Monosacharidy jsou řazeny k polyhydroxyaldehydům nebo polyhydroxyketonům, přičemž aldehydová skupina se nachází na prvním uhlíku molekuly, ketoskupina vždy na uhlíku druhém. Umístění funkční skupiny je znázorněno na **obrázku č. 3.25**.



Obr. č. 3.25: Umístění aldehydové a ketonové funkční skupiny u D-glukosy (A) a D-fruktosy (B)

Zmíněné předpony (tzv. stereodeskriptory) D- a L- naznačují prostorovou orientaci, konfiguraci na chirálním uhlíkovém atomu. Látky obsahující chirální uhlíky jsou látkami opticky aktivními. Stáčí tedy rovinu polarizovaného světla o určitý úhel, a to buď doprava – značí se znaménkem plus nebo doleva, značí se znaménkem mínus.

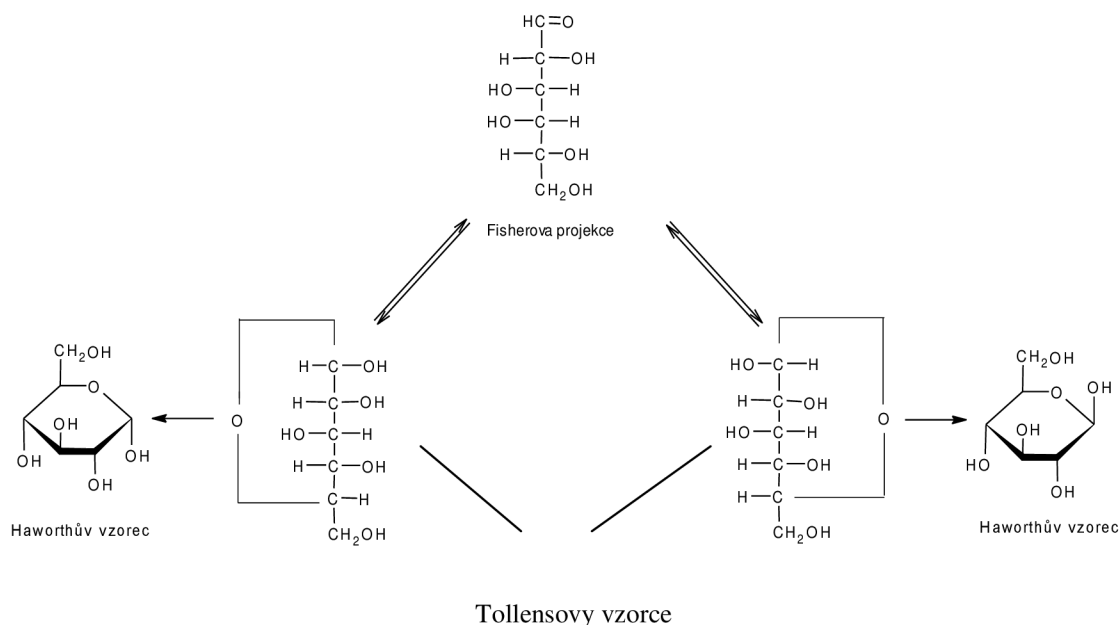
Příslušnost k D- a L- řadě monosacharidů je dána polohou -OH skupiny na chirálním uhlíku, nejbližším od karbonylové skupiny. D- a L- monosacharidy jsou sobě navzájem tzv. enantiomery (zrcadlovými obrazy), znázorněnými na **obr. č. 3.26** [33].



Obr. č. 3.26: Znázornění enantiomerů: D-glukosa (A) a L-glukosa (B)

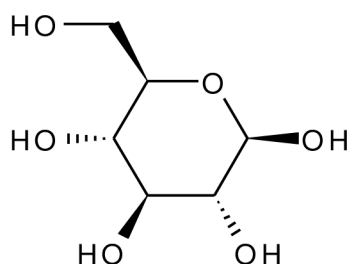
Některé monosacharidy mají acyklickou strukturu s volnou karbonylovou skupinou, jiné mají strukturu cyklickou (hemiacetaly). Za tvorbu cyklických forem je zodpovědná vysoce reaktivní karbonylová skupina. Podle počtu uhlíku nacházejících se v jejich řetězci se dělí na triosy, tetrosy, pentosy, hexosy atd., přičemž triosy se vyskytují převážně ve formě lineární, zatímco monosacharidy s vyšším počtem uhlíku se vyskytují jako sloučeniny cyklické. Převážná část přírodních sacharidů se vyskytuje ve formě pentos a hexos [34].

Struktury s pětičlenným cyklem jsou označovány jako furanosy, struktury šestičlenné jako pyranosy. Jednotlivé struktury jsou znázorněny buď vzorcem Fisherovým, Tollensovým nebo Haworthovým, **obr. č. 3.27** [35].



Obr. č. 3.27: Znázornění D- glukosy pomocí různých vzorců [36]

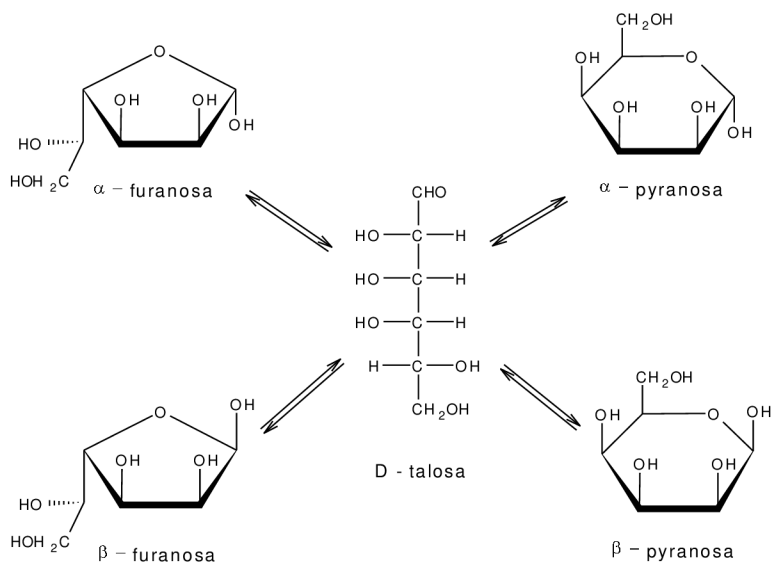
Nový způsob zápisu představují Millsovy vzorce (**obr. č. 3.28**), které znázorňují pyranosový nebo furanosový kruh v rovině a vazby k funkčním skupinám se znázorňují tzv. klínky. Pokud vazba směřuje nad rovinu kruhu, značí se plným klínkem, pokud směřuje pod rovinu, označuje se klínkem šrafovaným, tzv. wedge-slash projekce [32].



Obr. č. 3.28: Znázornění β -D-Glukosy pomocí Millsova vzorce.

U monosacharidů dochází k tzv. vnitřní cyklizaci, kdy jedna z hydroxyskupin, nejčastěji na 4. nebo 5. uhlíku, reaguje s karbonylovým uhlíkem za vzniku hemiacetalu nebo hemiketalu. Při cyklizaci se vytváří nový chirální uhlíkový atom, jehož hydroxylová skupina, hemiacetalový (hemiketalový) hydroxyl, je schopen zaujímat dvě orientace, označované jako orientace α a β . Monosacharidy, které se liší pouze orientací tohoto hydroxylu, jsou nazývány anomery. Monosacharidy lišící se pouze v konfiguraci na jednom chirálním uhlíku se nazývají epimery. Při pojmenování anomeru je rovněž přihlíženo k tomu, zda se jedná o monosacharidy -D nebo -L řady. Pokud je hemiacetalový hydroxyl u -D monosacharidů orientován vpravo, jedná se o tzv. α anomer, pokud je orientován vlevo, nazýváme jej β anomerem. U -L monosacharidů platí toho pravidlo opačně.

Při rozpouštění čisté formy monosacharidu ve vodě se postupně, v průběhu několika hodin vytváří roztok, v němž jsou vedle původního (např. α anomeru) zastoupeny i další, tedy β anomer, a rovněž jak furanosy tak i pyranosy. Každý z izomerů disponuje jinou optickou otáčivostí, která se v důsledku ustanovování rovnováhy v roztoku mění. U anomeru s vyšší hodnotou optické otáčivosti dochází k jejímu snížení a naopak. Tato rovnováha se ustanovuje přes acyklickou formu, která je v roztoku v menšině, ale zaujímá v tomto procesu významnou roli (**obr. č. 3.29**). Proces ustanovení rovnováhy se označuje jako *mutarotace* [37].



Obr. č. 3.29: Proces mutarotace u D-talosu [37]

Anomery přírodních sacharidů se vyskytují ve směsi v určitém procentuálním zastoupení, které je pro ně charakteristické. Zastoupení jednotlivých forem některých sacharidů je uvedeno v následující **tabulce č. 3.1**.

Tabulka č. 3.1: Relativní zastoupení anomerů vybraných sacharidů (%) [38]

Sacharid	Pyranosa		Furanosa		Open-chain (%)
	α (%)	β (%)	α (%)	β (%)	
D-glukosa	38	62	0,5	0,5	0,002
D-mannosa	66	35	0,6	0,3	0,005
D-fruktosa	2,5	65	6,5	25	0,800
D-galaktosa	30	64	2,5	3,5	0,020
D-xylosa	37	63	0,3	0,3	0,002

2.2.3 Disacharidy

Disacharidy jsou tvořeny dvěma monosacharidovými jednotkami navzájem spojenými glykosidickou vazbou. Dle umístění glykosidické vazby se disacharidy dělí na redukující (1-4 nebo 1-6 vazba), které jsou schopny redukovat oxidační činidla, a neredukující (1-1 nebo 1-2 vazba). Nejznámějším příkladem neredukujícího sacharidu je sacharosa, tvořena molekulou fruktosy a glukosy, a trehalosa tvořená dvěma molekulami glukosy v poloze 1-1. Mezi redukující sacharidy řadíme např. maltosu, tvořenou dvěma molekulami glukosy, spojenými vazbou v poloze 1-4. Pro redukující sacharidy je typické stanovení v alkalickém prostředí, kde redukují za teploty 100°C měďnatou sůl na sůl měďnou, která následně tvoří s Nelsonovým činidlem modrozelený komplex, jehož koncentrace se zjišťuje měřením absorbance při 540 nm – tzv. Somogyiho metoda.

2.2.4 Alditoly

Alditoly neboli cukerné alkoholy vznikají redukcí monosacharidů činností hub a bakterií [30]. Tvoří hlavní cukernou složku u lišejníků, rovněž se vyskytují ve větvích a listech stromů [21]. Mají podobně jako monosacharidy sladkou chuť a rostlinám slouží k vábení živočichů. D-sorbitol se vyskytuje v rostlinných plodech, např. v jeřabinách, zatímco D-manitol lze nalézt v tělech hub. Biologická funkce těchto látek je široká, mohou hrát důležitou roli např. při syntéze antibiotik v bakteriích Aktinomycetes. Zatímco redukcí aldosa vzniká jeden alkoholický cukr, redukcí ketosa vznikne nové chirální centrum a tím i dva diastereomerní cukry [39]. Mohou být emitovány buď přímo ze zdroje, nebo procesem stripování během spalování biomasy [31].

2.2.5 Analýza sacharidů

Analýza sacharidů v atmosférických aerosolech sestává z několika základních kroků, kterými jsou vzorkování, extrakce, derivatizace a identifikace technikou GC/MS. Vzorkování se provádí na filtry z křemenných vláken, které je před samotným použitím nutné vyžít v peci za vysokých teplot, pro odstranění organických látek. Extrakce se provádí ultrazvukovým extraktorem, za použití methanolu, dichlormethanu nebo jejich směsí. Důležitým krokem je derivatizace, jelikož se jedná o látky polární a teplotně málo stabilní. Jako derivatizační směs se užívá BSTFA nebo MSTFA s 1% TMCS, v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem. Analytickou

koncovkou je GC/MS. Podmínky některých analýz sacharidů uvedených v literatuře, jsou znázorněny v následujících **tabulkách č. 3.2-3.5.**

Tabulka č. 3.2: Podmínky analýzy sacharidů dle [18]

<i>Oblast vzorkování:</i> Východní Texas a Arizona	<i>Extrakce:</i> sonikace 30 min, DCM:MeOH (2:1)
<i>Použité filtry:</i> křemen (8"x 10")	<i>Derivatizace:</i> BSTFA + 1% TMCS, 3 h, 70°C
<i>Použitý vzorkovač:</i> High Volume Sampler	<i>Teplotní program:</i> 65°C_10 min →10°C/ min →300°C_5 min
<i>Velikostní frakce</i> PM _{2,5}	
<i>Doba vzorkování:</i> 24 h	

Tabulka č. 3.3: Podmínky analýzy sacharidů dle [19]

<i>Oblast vzorkování:</i> Belgie	<i>Extrakce:</i> sonikace 90 min, DCM:MeOH (4:1)
<i>Použité filtry:</i> křemen (47 mm)	<i>Derivatizace:</i> MSTFA + 1%TMCS, 1 h, 70° C
<i>Použitý vzorkovač:</i> Open-face sampler	<i>Teplotní program:</i> 120°C_2 min→5°C/min→200°C→20°C/min →300°C _2 min
<i>Velikostní frakce</i> PM _{2,5}	
<i>Doba vzorkování:</i> 24 h	

Tabulka č. 3.4: Podmínky analýzy sacharidů dle [20]

<i>Oblast vzorkování:</i> Belgie	<i>Extrakce:</i> sonikace 30 min, DCM:MeOH (1:1)
<i>Použité filtry:</i> křemen (8"x 10")	<i>Derivatizace:</i> BSTFA+1% TMCS, 3 h, 70°C
<i>Použitý vzorkovač:</i> High Volume Sampler	<i>Teplotní program:</i> 65°C_10min→10°C/min→285°C→40°C/min →310°C_ 1,5 min
<i>Velikostní frakce</i> PM _{2,5}	
<i>Doba vzorkování:</i> 24 h	

Tabulka č. 3.5: Podmínky analýzy sacharidů dle [21]

<i>Oblast vzorkování:</i> USA	<i>Extrakce:</i> sonikace 15 min, DCM:MeOH (2:1)
<i>Použité filtry:</i> skelná vlákna (90 mm)	<i>Derivatizace:</i> BSTFA+1% TMCS, 3 h, 70°C
<i>Použitý vzorkovač:</i> High Volume Sampler	<i>Teplotní program:</i> 65°C_2 min→6°C/min→300°C_15 min
<i>Velikostní frakce</i> PM _{2,5}	
<i>Doba vzorkování:</i> 14 dní	

2.3 Emise ze spalování biomasy

Spalování biomasy (zejména dřevin) v rámci vytápění domácností, je hlavním zdrojem anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva v atmosférickém aerosolu [40]. Kouř vzniklý spalováním dřevin je bohatý na fenoly, kresoly, methoxyfenoly, pryskyřičné kyseliny a anhydridy monosacharidů [41]. Obsah těchto látek v emisích záleží na typu dřeva, který je spálen [42, 43,44] (**obr. č. 3.33 a 3.34**).

S rostoucí teplotou spalování a s klesajícím obsahem vody ve dřevě se zvyšuje uvolněné množství těchto látek. Jejich volatilní vlastnosti jim umožňují snadnější transport do ovzduší [42]. Ten je pak řízen meteorologickými podmínkami (rychlost a směr větru, srážky...).

Tepelná degradace dřevin je ovlivněna jejich chemickým složením (podíl celulosy, ligninu a hemicelulosy), a fyzikálními vlastnostmi (vlhkost, tepelná vodivost, měrné teplo). Elementární složení dřevin se téměř shoduje, a to bez ohledu na typ dřeva [45], jak je uvedeno v **tabulce 3.6**. Jednotlivé dřeviny se liší v obsahu hlavních biopolymerů (**tabulka 3.7**).

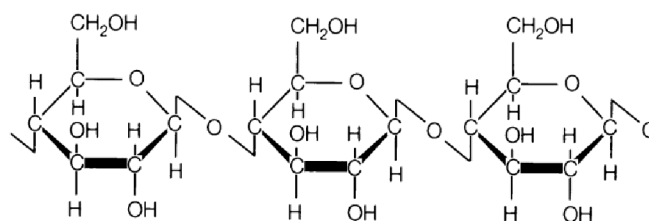
Tabulka č. 3.6: Elementární složení dřevin

Dřevina	C (%)	H (%)	O (%)
Smrk	50,3 – 51,4	6,1 – 6,3	41,6 – 43,1
Jedle	50,4 – 51,3	5,9 – 6,0	43,4 – 44,0
Borovice	49,5 – 49,6	6,4	44,0 – 44,4
Dub	49,4 – 50,6	6,1 – 6,2	41,8 – 44,5
Buk	48,5 – 50,9	6,1 – 6,3	42,1 – 45,2

Tabulka č. 3.7: Porovnání obsahu biopolymerů

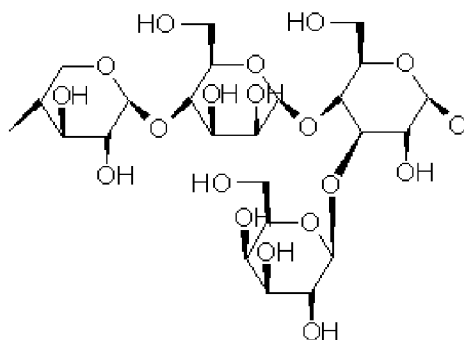
Extrakty (%)	Buk	Smrk
Celulosa	40 - 45	40 – 45
Lignin	20 - 25	25 - 30
Hemicelulosa	30 - 35	25 – 30

Řetězec *celulosy* (**obr. 3.30**) je složen z monomerních jednotek D-glukosy [46]. Je nerozvětvený a zcela nerozpustný ve vodě. Tvoří základní stavební jednotku buněčných stěn.



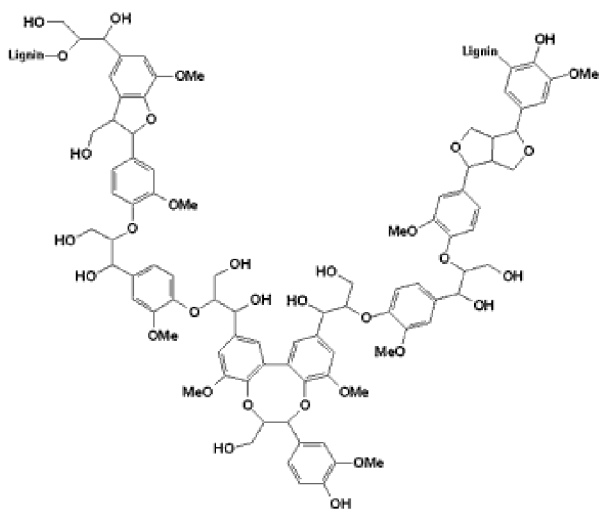
Obr. č. 3.30: Struktura celulosy

Hemicelulosa (**obr. 3.31**) je tvořena směsí monomerů glukosy, mannosy, galaktosy nebo xylosy [46]. V buněčných stěnách tvoří hemicelulosa tmelící vrstvu mezi celulosovými řetězci, na kterou se váže lignin.

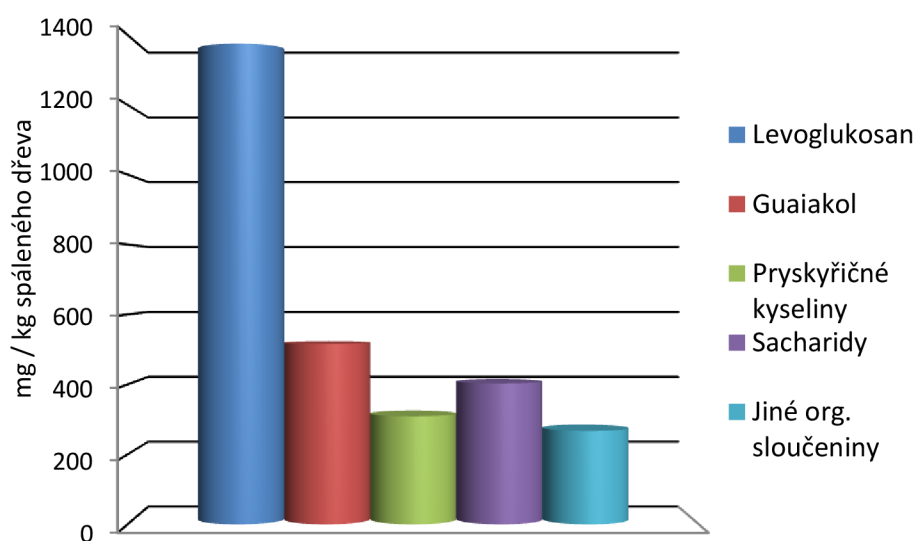


Obr. č. 3.31: Struktura hemicelulosity

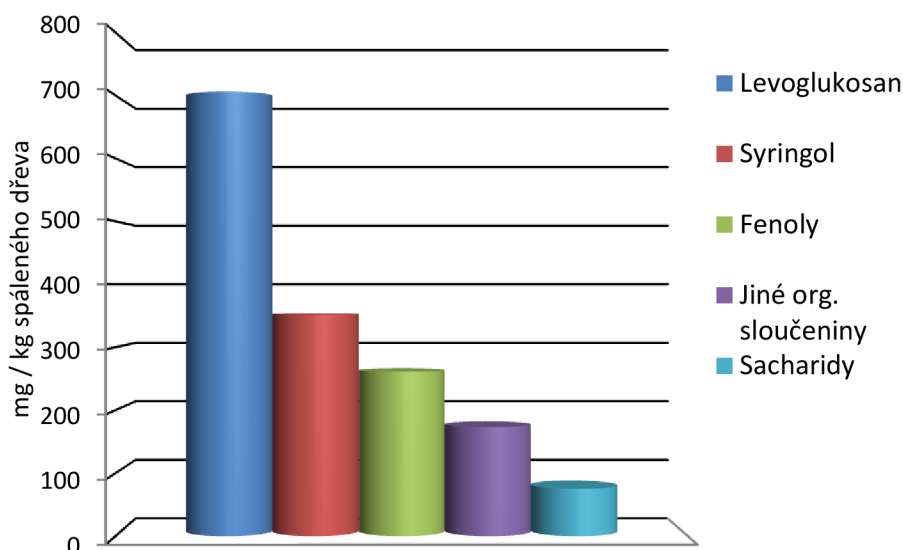
Lignin (obr. 3.32) je složkou buněčných stěn, zajišťující jejich dřevnatění. Jedná se o vysokomolekulární amorfni látku, dodávající dřevu jeho pružnost, pevnost a plnicí hydrofobní funkci.



Obr. č. 3.32: Struktura ligninu



Obr. č. 3.33: Složení emisí ze spalování měkkého dřeva.



Obr. č. 3.34: Složení emisí ze spalování tvrdého dřeva.

2.3.1 Anhydridy monosacharidů

Při procesu spalování se nejprve dřevo ohřívá na teplotu 100 °C, která se udržuje po dobu potřebnou k odpaření veškeré vody, obsažené ve dřevě. Poté se teplota pomalu zvyšuje na 150 °C, kdy začíná zplynění a termický rozklad hlavních složek (hemicelulosa, celulóza a ligninu) [47]. Právě termickým rozkladem těchto složek se při teplotě 300 °C [19, 48] do ovzduší uvolňuje anhydrid monosacharidu levoglukosan jako hlavní produkt spalování celulózy, následovaný minoritními produkty spalování hemicelulózy galaktosanem a mannosanem (**obr. 3.35**).

Levoglukosan tvoří svými 18-30 % hlavní složku organických sloučenin obsažených v emisích, a to jak ze spalování měkkého, tak i tvrdého dřeva [49]. Slouží dnes jako hlavní marker spalování biomasy. Navzdory v minulosti předpokládané vysoké stabilitě levoglukosanu v ovzduší, byla nedávno prokázána jeho degradace důsledkem oxidace OH radikály [50]. Anhydridy monosacharidů byly kromě emisí ze spalování biomasy (měkkého i tvrdého dřeva) rovněž identifikovány v emisích ze spalování lignitu [51, 52].

2.3.1.1 Analýza anhydridů monosacharidů

Analýza anhydridů monosacharidů v atmosférických aerosolech je založena na extrakci pomocí ultrazvukových vln, za použití MeOH, DCM nebo jejich směsí jako rozpouštědla. Před samotnou identifikací technikou GC/MS je nutná derivatizace těchto sloučenin, z důvodu jejich nízké teplotní stability a vysoké polaritě. Jako derivatizační činidlo se používá směs MSTFA nebo BSTFA spolu s 1% TMCS. Velmi často se pro analýzu anhydridů monosacharidů používá také kapalinová chromatografie [53, 54, 55].

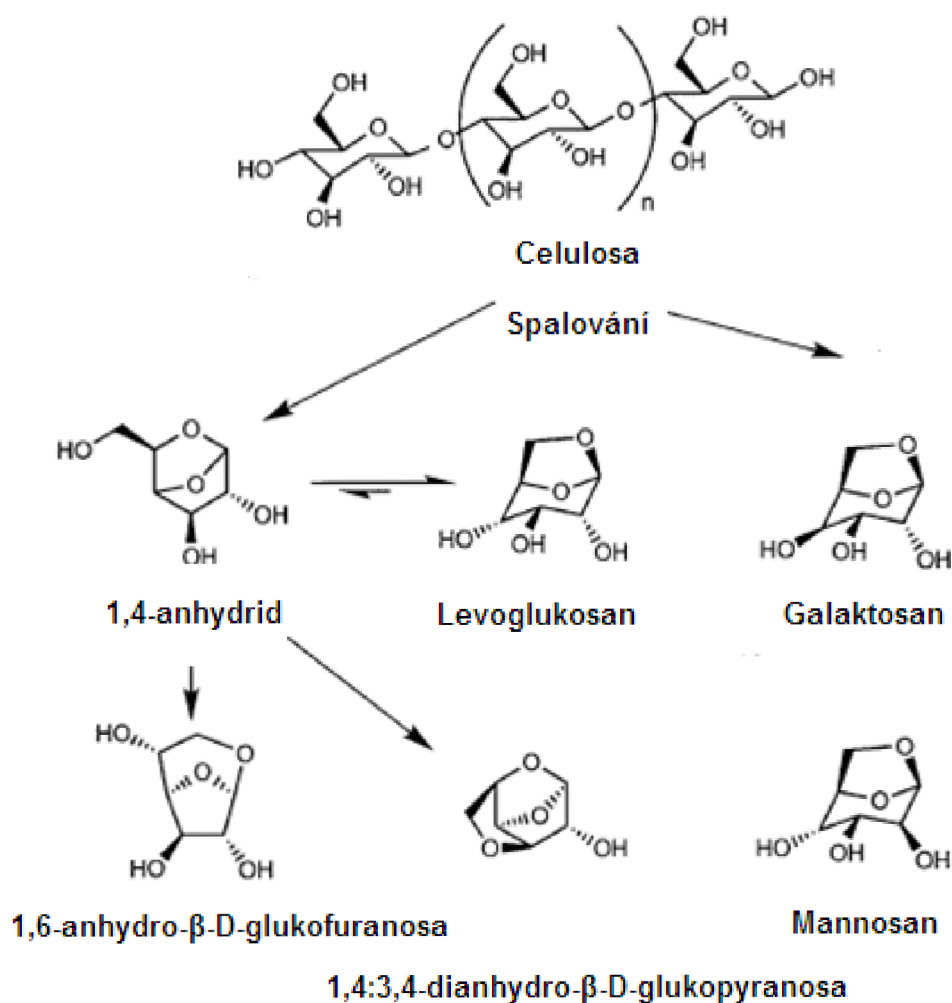
Příklady postupů analýz anhydridů monosacharidů jsou uvedeny v následujících **tabulkách č. 3.8-3.9**.

Tabulka č. 3.8: Podmínky analýzy anhydridů monosacharidů dle [19]

<i>Oblast vzorkování:</i> Belgie	<i>Extrakce:</i> sonikace, DCM:MeOH (4:1)
<i>Použité filtry:</i> křemenná vlákna	<i>Derivatizace:</i> MSTFA+1% TMCS, 1 h, 70°C
<i>Použitý vzorkovač:</i> High Volume sampler	<i>Teplotní program:</i> 120°C_2 min→5°C/min→200°C_2min→20°C/min →300_2min
<i>Velikostní frakce:</i> PM ₁₀	
<i>Doba vzorkování:</i> 24h	

Tabulka č. 3.9: Podmínky analýzy anhydridů monosacharidů dle [51]

<i>Oblast vzorkování:</i> Polsko	<i>Extrakce:</i> sonikace, MeOH
<i>Použité filtry:</i> křemenná vlákna	<i>Derivatizace:</i> BSTFA+1% TMCS, 2 h, 70°C
<i>Použitý vzorkovač:</i> High Volume sampler	<i>Teplotní program:</i> 50°C/10 min→10°C/min→310°C_5 min
<i>Velikostní frakce:</i> nerozlišeno	
<i>Doba vzorkování:</i> neuvedeno	



Obr. č. 3.35: Hlavní produkty spalování celulosy a hemicelulosy [53]

2.3.2 Markery spalování dřeva

Dalšími významnými látkami, uvolňujícími se do ovzduší při spalování dřeva jsou methoxyfenoly, pryskyřičné kyseliny a hydroxybenzoové kyseliny, běžně označované jako markery spalování dřeva.

Pryskyřičné kyseliny jsou přírodní součástí zejména měkkého dřeva [56], z něhož jsou do ovzduší emitovány během spalování nebo rozkladu. Jelikož se jedná o látky málo rozpustné ve vodě, jsou schopné akumulovat se v tkáních živých organismů. Jsou to látky hepatotoxické a mutagenní. Hlavními zástupci této skupiny látek jsou *kyselina abietová* a *dehydroabietová*. Dehydroabietová kyselina rovněž vzniká oxidací v atmosféře první zmíněné kyseliny a představuje tak dominantní marker [57]. V lokalitách, kde se dřevo využívá k topení, může koncentrace tohoto markeru dosahovat rozmezí 48-440 ng/m³ [4].

Methoxyfenoly vznikají tepelným rozkladem ligninu, hlavní složky rostlinných buněk a jsou rovněž odpadem při výrobě papíru. Mezi nejvýznamnější zástupce methoxyfenolů jsou řazeny *guaiakol*, *vanilin*, *syringol*. Syringol patří mezi semivolatilní látky, vyskytující se jak v plynné, tak i v pevné fázi. Je produktem spalování tvrdého dřeva. Guaiakol se do ovzduší dostává ze spalování tvrdého i měkkého dřeva. Při spalování měkkého dřeva jsou však známy jeho vyšší koncentrace [58]. *Vanilin* je do ovzduší emitován při spalování měkkého dřeva. Jedná se o hydrofilní látku, tudíž je snížena jeho schopnost bioakumulace. Přesto ale má nepříznivý vliv na lidské zdraví. Dráždí pokožku a oči [59].

Hydroxybenzoové kyseliny - *kyselina vanilová* a *kyselina syringová* jsou nedílnou součástí rostlinných buněčných stěn, nacházejících se zde ve formě polymerů, které zajišťují mechanickou podporu buněk a slouží rovněž jako bariéra proti mikroorganismům. Do ovzduší je kyselina vanilová emitována při spalování měkkého dřeva, kyselina syringová pak při spalování tvrdého dřeva. Konkrétně vznikají obě kyseliny tepelným rozkladem ligninu [59].

2.3.2.1 Analýza markerů spalování dřeva

Analýza markerů spalování dřeva je založena na stejném principu jako analýza sacharidů a anhydridů monosacharidů, tedy extrakce pomocí ultrazvuku [61], za použití methanolu a dichlormethanu jako rozpouštědla [60, 61]. Po odpaření rozpouštědla následuje derivatizace. Užívanými derivatizačními činidly jsou BSTFA a MSTFA s 1% TMCS, ve směsi 2:1 (v/v) s pyridinem [51, 60]. Analytickou koncovkou je nejčastěji technika GC/MS. Příklady analýz markerů spalování dřeva jsou uvedeny v následujících **tabulkách č. 3.10-3.11**.

Tabulka č. 3.10: Podmínky analýzy anhydridů monosacharidů dle [51]

<i>Oblast vzorkování:</i> Polsko	<i>Extrakce:</i> sonikace, MeOH
<i>Použité filtry:</i> křemenná vlákna	<i>Derivatizace:</i> BSTFA+1% TMCS, 2 h, 70°C
<i>Použitý vzorkovač:</i> High Volume sampler	<i>Teplotní program:</i> 50°C_10 min→10°C/min→ 310°C_5 min
<i>Velikostní frakce:</i> nerozlišeno	
<i>Doba vzorkování:</i> neuvedeno	

Tabulka č. 3.11: Podmínky analýzy anhydridů monosacharidů dle [57]

<i>Oblast vzorkování:</i> Austrálie, Nový Zéland	<i>Extrakce:</i> sonikace, ethylacetát + TEA
<i>Použité filtry:</i> křemenná vlákna, 47 mm	<i>Derivatizace:</i> BSTFA+1% TMCS, 1 h, 70°C
<i>Použitý vzorkovač:</i> High Volume sampler	<i>Teplotní program:</i> 40°C_1,5 min→30°C/min→190°C→20°C/min →210°C→50°C/min→300°C_1,5 min
<i>Velikostní frakce:</i> PM _{2,5}	
<i>Doba vzorkování:</i> zima 2003-2004	

3 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je analýza sacharidů a markerů spalování dřeva v atmosférickém aerosolu (PM_{2,5}).

Cíle, kterých má být dosaženo:

- vypracování literární rešerše na téma sacharidy a markery spalování dřeva, se zaměřením na metody jejich analýzy,
- optimalizace metody společné analýzy sacharidů a markerů spalování dřeva v atmosférickém aerosolu,
- výběr vhodného rozpouštědla pro společnou extrakci vybraných organických sloučenin,
- optimalizace derivatizačních podmínek (čas derivatizace, srovnání účinnosti derivatizačních směsí, ...),
- použití optimalizované metody pro analýzu reálných vzorků aerosolu, frakce PM_{2,5}, odebíraných ve všech ročních obdobích,
- srovnání koncentrací analyzovaných sloučenin během všech ročních období.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Přístroje

- Vysokoobjemový vzorkovač typu HVS DHA-80 (DIGITEL)
- Antistatická sada (Mettler Toledo)
- Mikrováhy, typ M5P (Sartorius)
- Ultrazvukový extraktor (Sonorex Digitec)
- Vakuová odparka RVO 200A (Ingos)
- GC/MS (Agilent, 7890-A, 5775C)

4.2 Chemikálie

Standardy 14 sacharidů, 6 markerů spalování dřeva a 3 anhydridů monosacharidů, „recovery“ standard (RS) methyl-β-L-arabinopyranosid (dále jen arabinopyranosid), methanol p.a, dichlormethan p.a, n-hexan, pyridin (≥ 99 %). Dodavatel: Sigma Aldrich (SA), Česká republika; Chem Service (CS), UK.

- *Sacharidy:*

Myo-inositol (≥ 99,5 %, SA), D-manitol (≥ 98 %, SA), D-sorbitol (≥ 98 %, SA), D(+)arabitol (≥ 99 %, SA), D(+)arabinoza (≥ 98 %, SA), D(+)lyxosa (99 %, SA), D(+)glukosa (≥ 99,5 %, SA), D(-)fruktosa (≥ 99 %, SA), D(+)sacharosa (≥ 99,5 %, SA), D(+)maltosa (≥ 98 %, SA), D(+)trehalosa (≥ 99 %, SA), D(+)xyloza (99 %, SA), D(+)mannosa (99 %, SA), D(+)galaktosa (≥ 99 %, SA).

- *Anhydridy monosacharidů:*

Levoglukosan (1,6-anhydro- β-D-glukopyranosan, 99 %, SA), mannosan (1,6-anhydro- β-D-mannopyranosa, 99 %, SA), galaktosan (1,6-anhydro- β-D-galaktopyranosa, 99 %, SA)

- *Markery spalování dřeva:*

Vanilin (≥ 97 %, SA), syringol (99 %, SA), kyselina vanilová (≥ 97 %, SA), kyselina syringová (99 %, SA), kyselina abietová (99 %, CS), kyselina dehydroabietová (99 %, CS).

- *„Recovery“ standard:*

Methyl-β-L-arabinopyranosid (≥ 98%, SA)

Tabulka č. 4.1: Analyzované látky - sacharidy

Název	Vzorec	Název	Vzorec
Myo-inositol		D(-)Fruktosa	
D-Manitol		D(+)Sacharosa	
D-Sorbitol		D(+)Maltosa	
D(+)Arabitol		D(+)Trehalosa	
D(-)Arabinosa		D(+)Xyloza	
D(+)Lyxosa		D(+)Mannosa	
D(+)Glukosa		D(+)Galaktosa	

Tabulka č. 4.2: Analyzované látky – anhydridy monosacharidů, markery spalování dřeva a RS

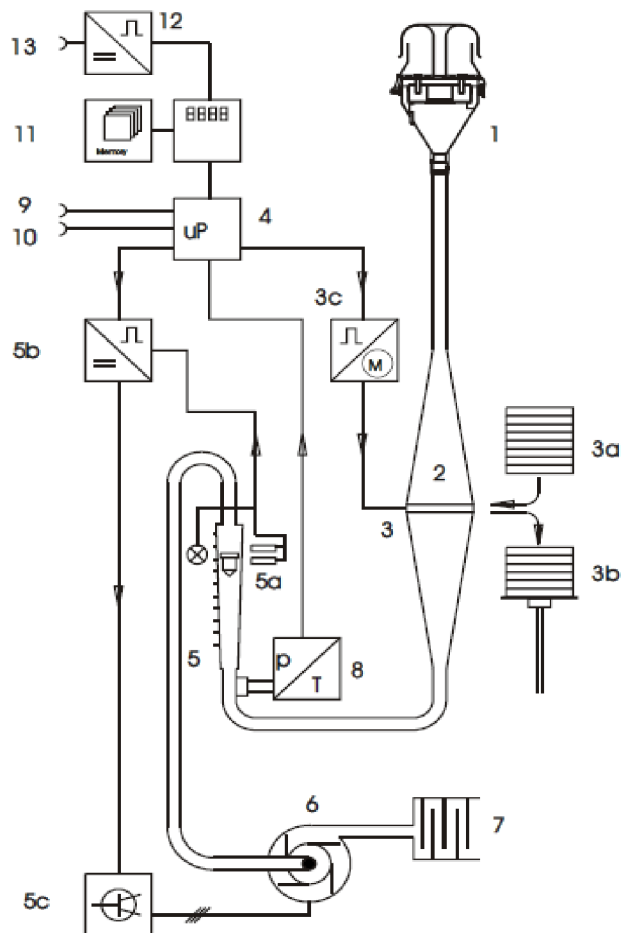
Vzorec	Název	Vzorec
	K. vanilová	
	K. syringová	
	K. abietová	
	K. dehydroabietová	
	Arabinopyranosid	

4.3 Vzorkování

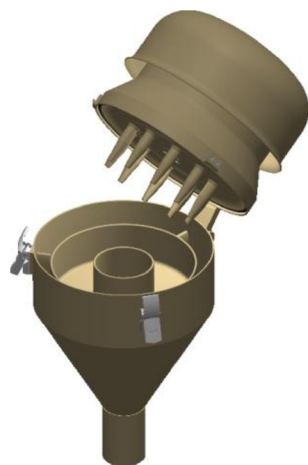
Atmosférické aerosoly byly vzorkovány na křemenné filtry vzorkovačem typu HVS DHA-80 (DIGITEL), (obr č. 4.1, 4.2), umístěným v 1. p. na balkóně Ústavu analytické chemie, Akademie věd ČR, Veveří, č. 97, Brno. HVS DHA-80 je plně automatizovaný systém, který nasává vzduch o množství 30 m³/h, s kapacitou 15 filtrů o průměru 150 mm.



Obr. č. 4.1: Vzorkovač DIGITEL HVS DHA-80.



Obr. č. 4.2: Schéma vzorkovače DIGITEL HVSDHA-80. (1) PM separátor, (2) průtoková komora, (3) filtr, (3a) zásobník čistých filtrů, (3b) odběr použitých filtrů, (3c) elektronické zařízení pro automatickou výměnu filtrů, (4) mikroprocesorová kontrola, (5) průtokoměr, (5a) fotosenzor snímající průtok vzduchu, (5b, 5c) kontrolní elektronika, (6) čerpadlo pro nasávání vzduchu, (7) tlumič hluku, (8) měřicí jednotka tlaku a teploty, (9) výstup pro tisk, (10) rozhraní RS232 C, (11) slot pro PC kartu, (12,13) vstup pro senzor rychlosti a směru větru (11, 12, 13) jsou volitelné.

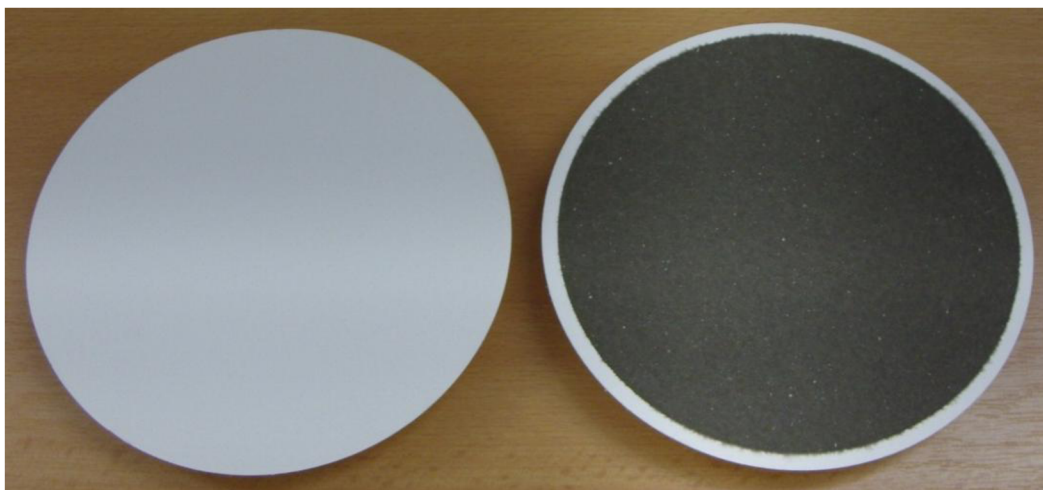


Obr. č. 4.3: PM separátor

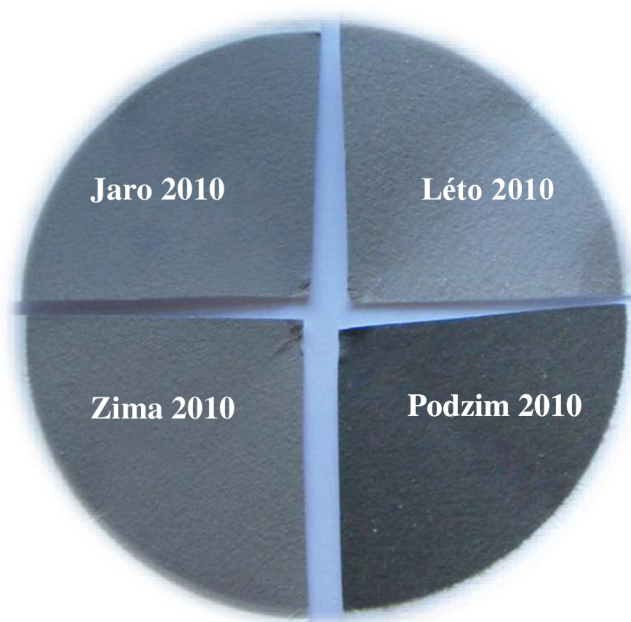
Vzduch byl nasáván separátorem pro velikostní frakci $PM_{2.5}$ (1- stupňový impaktorový separátor, **obr. č. 4.3**), průtokovou rychlostí $30 \text{ m}^3/\text{h}$ po dobu 24 hodin. Částice byly zachytávány na mikrovláknité křemenné filtry Whatman QMA o průměru 150 mm. Celkový objem odebraného vzduchu tedy činil 720 m^3 .

Před samotným odběrem vzorku byly filtry vypáleny v peci při teplotě $500 \text{ }^\circ\text{C}$, po dobu 24 hodin, pro odstranění případných organických nečistot. Dalších 48 hodin byly filtry ekvilibrovány ve váhově za teploty $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ a vlhkosti $50 \pm 3 \%$ a poté zváženy na mikrováhách Sartorius, typ M5P ($\pm 1 \mu\text{g}$). Ekvilibrace exponovaných filtrů za stejných podmínek byla provedena rovněž po odběru aerosolů. Po ukončení ekvilibrace exponovaných filtrů, byly filtry znovu zváženy na mikrováhách. Před každým vážením filtrů byl odstraněn statický náboj (Mettler Toledo).

Po uplynutí doby nutné pro ekvilibraci byly exponované filtry rozstříhány na čtvrtiny, ty byly zváženy na mikrováhách, zabaleny do hliníkové folie a v uzavíratelném polyetylenovém obalu uloženy v mrazicím boxu za teploty $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ pro další zpracování.



Obr. 4.4: Blank a filtr po 24 hodinovém vzorkování $PM_{2.5}$ na podzim



Obr. č. 4.5: Exponované filtry z jednotlivých sezón

4.4 Extrakce

Exponované filtry byly před extrakcí po dobu 12 hodin vytaženy z mrazicího boxu, aby rozmrzly. Část filtru (1/4), určená pro analýzu, byla rozstříhána na tenké proužky, na které bylo nakapáno 25 μl „recovery“ standardu arabinopyranosidu o koncentraci 200 $\mu\text{g/ml}$, připraveného v methanolu. Proužky filtru byly ponechány ve váhově po dobu 30 minut, aby se odpařilo rozpouštědlo.

Proužky z dané čtvrtiny filtru byly vloženy do 20 ml vialky, do které bylo přidáno 20 ml směsi rozpouštědel MeOH:DCM 1:1 (v/v). Poté byl filtr extrahován za pomoci ultrazvukových vln (UZV), po dobu 30 minut. Po ukončení extrakce byl extrakt přelit do 100 ml baňky s kulatým dnem a po nalití dalších 20 ml rozpouštědla do vialky s filtrem byla extrakce opakována. Celkem byla extrakce provedena 3x. Po ukončení extrakce bylo 60 ml extraktu zahuštěno na vakuové odparce na objem cca 2 ml. Zahuštěný extrakt byl přefiltrován přes PTFE syringe filtry (13 mm, 0,45 μm , Labicom), (**obr. č. 4.6**) a odpařen dosucha proudem čistého dusíku.



Obr. č. 4.6: PTFE syringe filtr

4.5 Derivatizace

Po odpaření extraktu dosucha byl získaný odparek rozpuštěn ve 40 μl derivatizačního činidla MSTFA + 1% TMCS, a to v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem. Ke směsi bylo přidáno navíc 100 μl pyridinu, aby bylo zajištěno dokonalé rozpuštění odparku, a tím i dostatečná účinnost derivatizace.

Vialky byly vloženy do držáku a ponořeny ve vodní lázni o teplotě 70 $^{\circ}\text{C}$, po dobu 3 hodin. Po ukončení doby nutné pro derivatizaci, bylo činidlo odpařeno pod proudem čistého dusíku. Odparek byl rozpuštěn v 1 ml hexanu a analyzován technikou GC/MS v průběhu následujících 20 hodin.

4.6 Identifikace technikou GC/MS

Analytickou koncovkou při stanovení sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva byla tandemová technika GC/MS (Agilent, 7890-A, 5775C).

Tabulka č. 4.3: Parametry měření

Teplotní gradient	120 $^{\circ}\text{C}$ _2 min \rightarrow 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 280 $^{\circ}\text{C}$ _6 min
Kolona	HP5-MS, d : 320 μm , l : 30 m
Stacionární fáze	Polydimethylsiloxan, 1 μm
Nosný plyn	He

Průtok He	4 ml/min
Analyzátor	Kvadrupol
Ionizace	Elektronová ionizace
Nástřik	Spittless, 1 µl, 260 °C

Retenční časy a hmotnostní spektra analyzovaných sloučenin byla získána analýzou standardů těchto látek. Na základě získaných údajů pak bylo možné identifikovat analyzované sloučeniny v chromatogramu reálného vzorku. Retenční časy a m/z analyzovaných sloučenin jsou uvedeny v **tabulce č. 4.4**.

Tabulka č. 4.4: Vybrané charakteristické ionty pro analyzované sloučeniny a jejich retenční časy

m/z	Sloučenina	Retenční čas (min)
217	Arabinopyranosid	12,198
217	Arabinosa	13,611; 14,317
217	Galaktosan	14,612
217	Mannosan	15,097
217	Levoglukosan	15,579
217	Arabitól	15,952
319	Sorbitól	20,472
319	Manitol	20,321
305	Myo-inositol	23,358
437	Fruktosa	17,778; 17,941; 18,081
204	Glukosa	19,536; 21,275
204	Maltosa	33,075; 33,682
204	Galaktosa	18,874; 19,766
204	Lyxosa	13,430; 14,603
204	Xylosa	15,664; 16,813
204	Mannosa	17,778; 19,535
361	Sacharosa	32,551
361	Trehalosa	34,061
297	Kyselina vanilová	16,644
327	Kyselina syringová	19,437
256	Kyselina abietová	28,766
239	Kyselina dehydroabietová	28,282
194	Vanilin	11,681
211	Syringol	8,676

Vliv matrice a ztráty při zpracovávání vzorku byly eliminovány přepočtem přes koncentraci „recovery“ standardu. Koncentrace analyzovaných sloučenin byly vypočteny metodou kalibrační křivky.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Optimalizace metody analýzy

Metoda společné analýzy sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva byla navržena dle údajů pro jednotlivé analýzy sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva získaných z literatury. Navržená metoda byla optimalizována na standardech analyzovaných sloučenin a poté i na reálných vzorcích aerosolu frakce PM_{2,5}.

5.1.1 Optimalizace GC/MS

Při návrhu podmínek pro analýzu studovaných sloučenin technikou GC/MS se vycházelo z metody použité pro analýzu anhydridů monosacharidů [62]. Při použití navržených podmínek nedošlo k separaci píku β -galaktosy a β -mannosy v čase 19,535 minut. Proto byly testovány různé teplotní gradienty a rovněž různé průtoky mobilní fáze. Žádná změna teplotního gradientu a průtoku mobilní fáze však nevedla k rozseparování daného píku, naopak byla zhoršena separace jiných látek. Pro použitou kolonu HP5-MS (d : 20 μ m, l : 30 m) byl uvedený teplotní program nejvhodnější a za daných podmínek bylo dosaženo nejlepší separace analyzovaných sloučenin.

5.1.2 Optimalizace derivatizace

Pro stanovení sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva technikou GC/MS je nutné jejich převedení na těkavější a teplotně stabilnější deriváty. Derivatizační směs je možné použít čistou nebo v kombinaci s rozpouštědlem, nejčastěji pyridinem [63]. Derivatizačním činidlem je pro sacharidy, anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva v literatuře nejpoužívanější směs MSTFA + 1 % TMCS v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem [19] nebo směs BSTFA + 1 % TMCS v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem [27, 64]. Derivatizace sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva pomocí obou činidel byla srovnána a optimalizována pro standardy analyzovaných sloučenin a poté i na reálném vzorku aerosolu frakce PM_{2,5}.

5.1.2.1 Srovnání čisté derivatizační směsi a směsi s rozpouštědlem

Derivatizační směsi MSTFA + 1 % TMCS a BSTFA + 1 % TMCS lze použít buď samotné, nebo v kombinaci s rozpouštědlem, kterým je nejčastěji pyridin. Nejdříve byla proto srovnána účinnost daných směsí při použití s pyridinem a bez pyridinu.

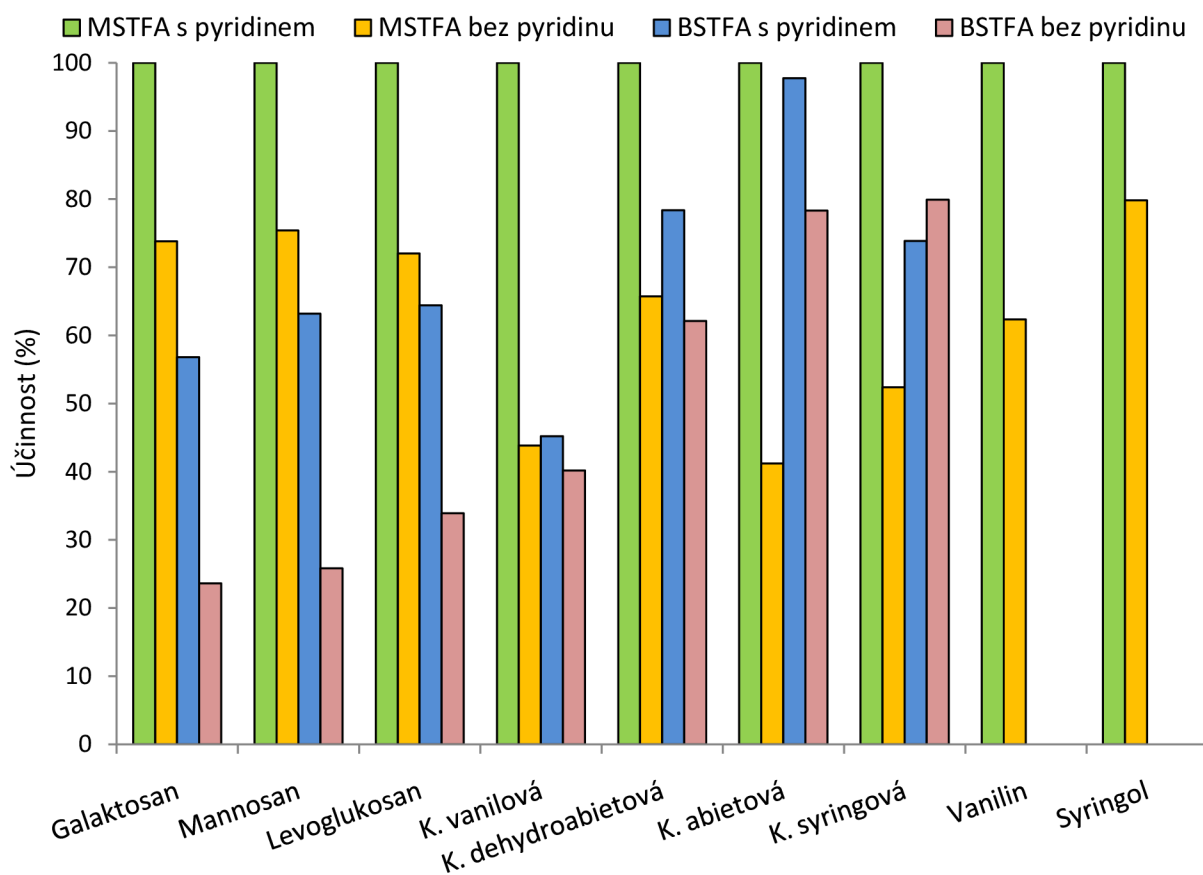
Při testování čistých derivatizačních směsí a směsí s rozpouštědlem bylo do 24 vialek napipetováno 100 μ l směsi všech standardů analyzovaných látek o koncentraci 10 μ g/ml. Po jejím odpaření proudem čistého dusíku byla provedena jejich derivatizace. Pro derivatizaci směsí MSTFA a BSTFA bez pyridinu bylo vždy do 6 vialkek přidáno 40 μ l samotné derivatizační směsi. Pro derivatizaci směsí MSTFA a BSTFA v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem bylo vždy do 6 vialkek přidáno 40 μ l derivatizační směsi v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem. Podmínky derivatizace jsou uvedeny v **tabulce č. 5.1**.

Tabulka č. 5.1: Podmínky derivatizace pro srovnání činidel na standardech

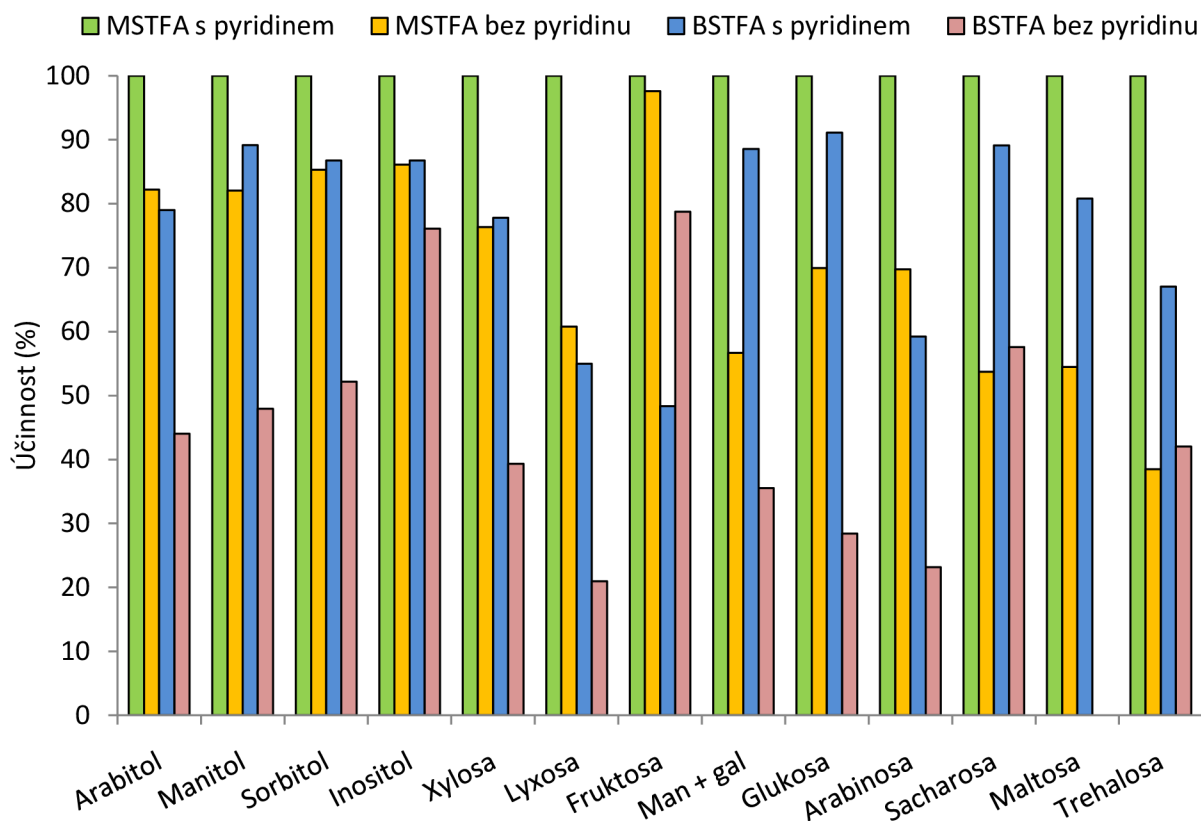
Počet vialek	Derivatizační směs	Doba a teplota derivatizace
6	MSTFA bez pyridinu	3 hodiny, 70° C
6	MSTFA s pyridinem 2:1	3 hodiny, 70° C
6	BSTFA bez pyridinu	3 hodiny, 70° C
6	BSTFA s pyridinem 2:1	3 hodiny, 70° C

Výsledky srovnání účinnosti derivatizačních směsí MSTFA a BSTFA, které byly porovnány ve směsi s pyridinem v poměru 2:1 (v/v) a bez pyridinu jsou uvedeny v grafu 5.1 a 5.2. Derivatizační směsi MSTFA s pyridinem 2:1 (v/v) byla přidělena účinnost 100%. Pozn.: man+gal: označuje sumu mannosy a galaktosy

U všech analyzovaných sloučenin vykazovala směs MSTFA v poměru 2:1 s pyridinem nejvyšší účinnost derivatizace. Derivatizační směs BSTFA vykazovala rovněž vysokou účinnost u disacharidů, alditolů, některých monosacharidů a pryskyřičných kyselin. Vanilin a syringol nebyly po derivatizaci směsí BSTFA detekovány. Obecně lze říci, že derivatizační činidla jsou účinnější ve směsi s pyridinem, který je pro tyto účely nejčastěji používaným rozpouštědlem. Při derivatizaci slouží pyridin jako akceptor HCl, uvolňující se při silylaci [59].



Graf č. 5.1: Srovnání účinnosti derivatizačních směsí pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva.



Graf č. 5.2: Srovnání účinnosti derivatizačních směsí pro sacharidy

Účinnost derivatizačních směsí pro jednotlivé analyzované sloučeniny, při použití směsi s pyridinem nebo bez pyridinu je uvedena v **tabulce č. 5.2**.

Tabulka č. 5.2: Relativní účinnost derivatizačních směsí vzhledem k MSTFA s pyridinem

	MSTFA s P	MSTFA bez P	BSTFA s P	BSTFA bez P
Galaktosan	100 %	73,8 %	56,8 %	23,6 %
Mannosan	100 %	75,4 %	63,2 %	25,8 %
Levoglukosan	100 %	72,0 %	64,4 %	33,9 %
Arabinosa	100 %	51,8 %	57,9 %	15,1 %
Lyxosa	100 %	47,4 %	52,7 %	19,5 %
Xylosa	100 %	74,2 %	77,8 %	28,9 %
Fruktosa	100 %	73,8 %	44,3 %	25,5 %
Glukosa	100 %	77,6 %	92,1 %	32,5 %
Mannosa + galaktosa	100 %	52,9 %	96,6 %	88,5 %
Sacharosa	100 %	53,8 %	89,1 %	57,6 %
Maltosa	100 %	47,2 %	47,2 %	ND
Trehalosa	100 %	38,5 %	67,1 %	42,1 %
Arabitol	100 %	82,2 %	78,9 %	44,0 %
Manitol	100 %	82,1 %	89,2 %	47,9 %
Sorbitol	100 %	85,3 %	86,8 %	52,2 %

Inositol	100 %	86,1 %	86,7 %	76,1 %
Kyselina syringová	100 %	52,4 %	73,9 %	78,3 %
Kyselina dehydroabietová	100 %	65,7 %	78,3 %	62,1 %
Kyselina abietová	100 %	41,2 %	97,7 %	78,3 %
Kyselina vanilová	100 %	43,8 %	45,2 %	40,2 %
Syringol	100 %	79,8 %	ND	ND
Vanilin	100 %	62,4 %	ND	ND

Pozn.: Relativní účinnost derivatizačních směsí, přepočítána dle MSTFA s pyridinem, s P – s pyridinem, bez P – bez pyridinu, ND – pod limitem detekce.

5.1.2.2 Závinnost účinnosti derivatizace na čase derivatizace

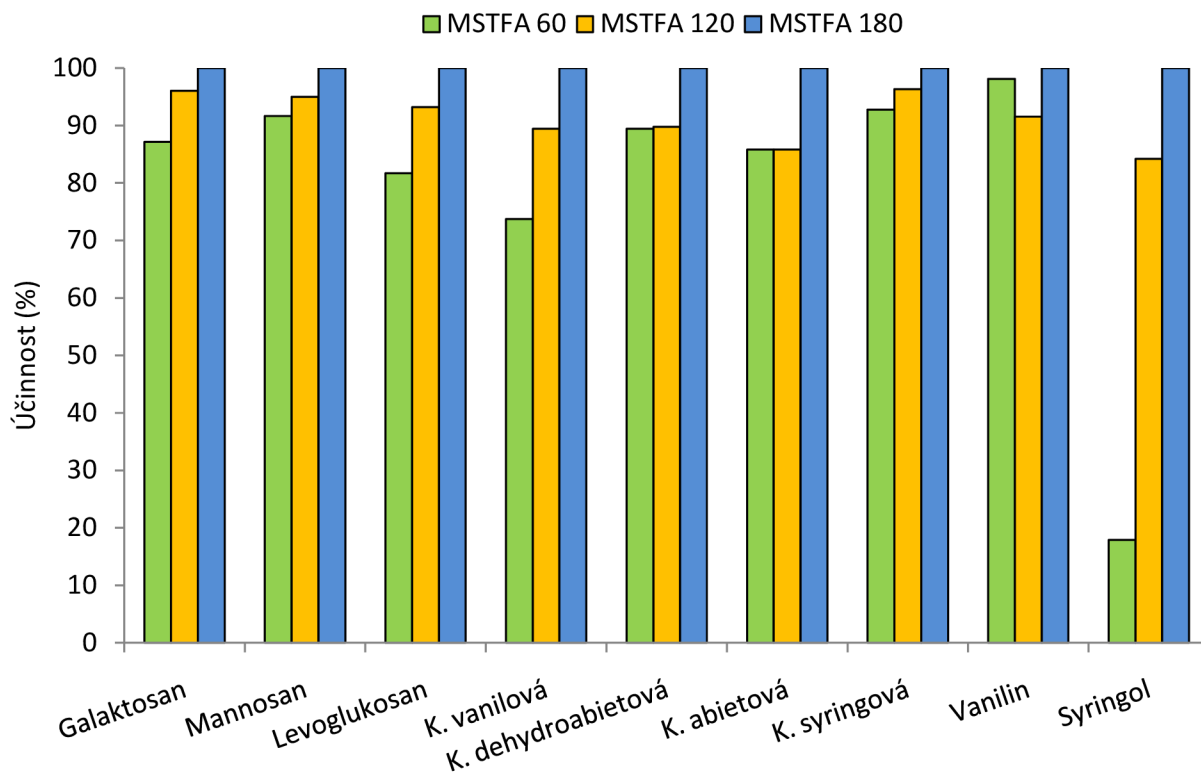
Účinnost derivatizace směsí MSTFA i BSTFA pro analyzované sloučeniny byla dále ověřena v závislosti na jejím čase. Účinnost byla ověřena pro standardy analyzovaných sloučenin, i na reálném vzorku PM_{2,5} (datum odběru 15. 5. 2010). Na základě publikací byly pro srovnání směsí vybrány časy derivatizace 60, 120 a 180 minut [18, 19].

Pro srovnání účinnosti derivatizační směsi v závislosti na čase derivatizace na standardech, bylo pro každou derivatizační směs do 12 vialek napipetováno 200 µl směsi standardů analyzovaných sloučenin o koncentraci 10 µg/ml. Pro každý studovaný čas derivatizace byly použity 4 vialky. Směs standardů byla odpařena pod proudem čistého dusíku dosucha a odparek byl rozpuštěn ve 40 µl derivatizační směsi, ke které bylo přidáno 100 µl pyridinu pro dokonalé rozpuštění odparku (viz kapitola 5.1.2.3). Po ukončení derivatizace bylo činidlo odpařeno dusíkem a po přidání 1 ml hexanu byl vzorek analyzován GC/MS. Každý vzorek byl analyzován 3x. Podmínky derivatizace jsou uvedeny v **tabulce č. 5.3** pro derivatizační směs MSTFA a v **tabulce č. 5.4** pro směs BSTFA.

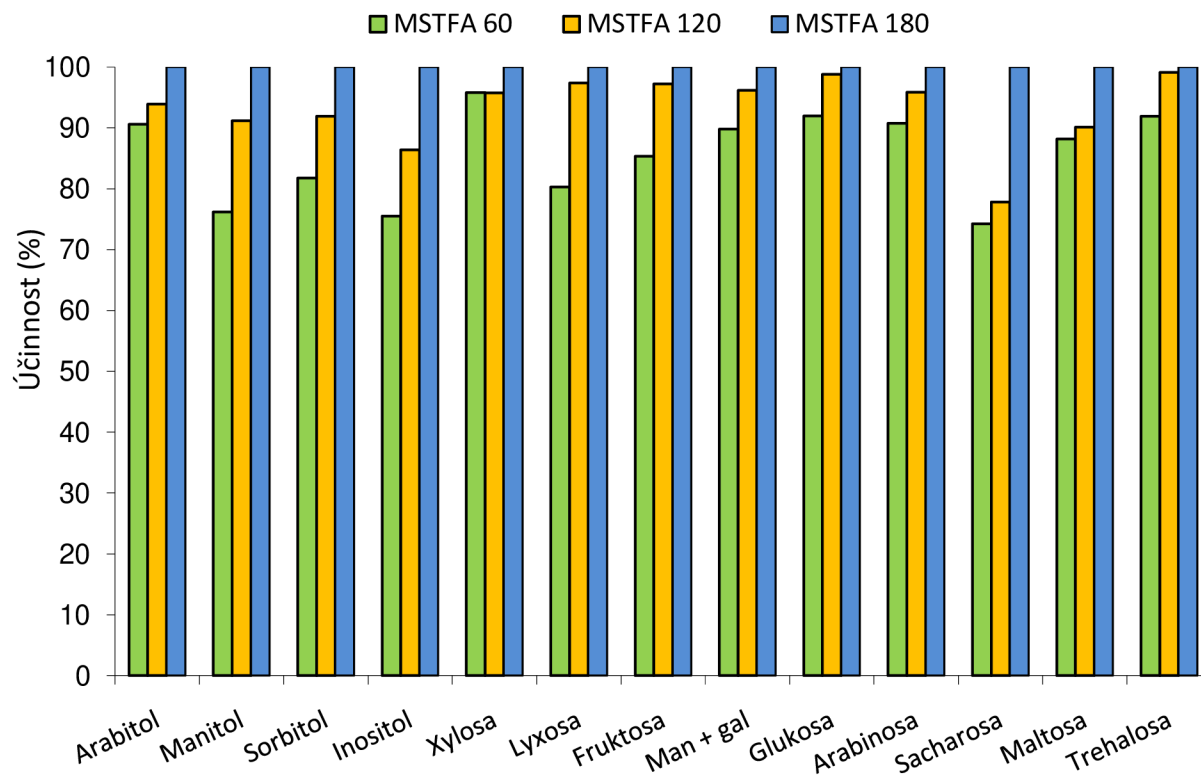
Tabulka č. 5.3: Podmínky derivatizace pro zjištění závislosti účinnosti na čase derivatizace směsí MSTFA pro standardy analyzovaných sloučenin.

Počet vialek	Derivatizační směs	Čas a teplota derivatizace
4	MSTFA s pyridinem (2:1)	1 hodina, 70° C
4	MSTFA s pyridinem (2:1)	2 hodiny, 70° C
4	MSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C

Výsledky zjištěné závislosti jsou uvedeny v **grafech č. 5.3** a **5.4**. Účinnost derivatizace pro dobu 60 a 120 minut byla přepočítána přes účinnost pro čas 180 minut (100% účinnost).



Graf č. 5.3: Závislost účinnosti derivatizace směsi MSTFA na čase derivatizace pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva.

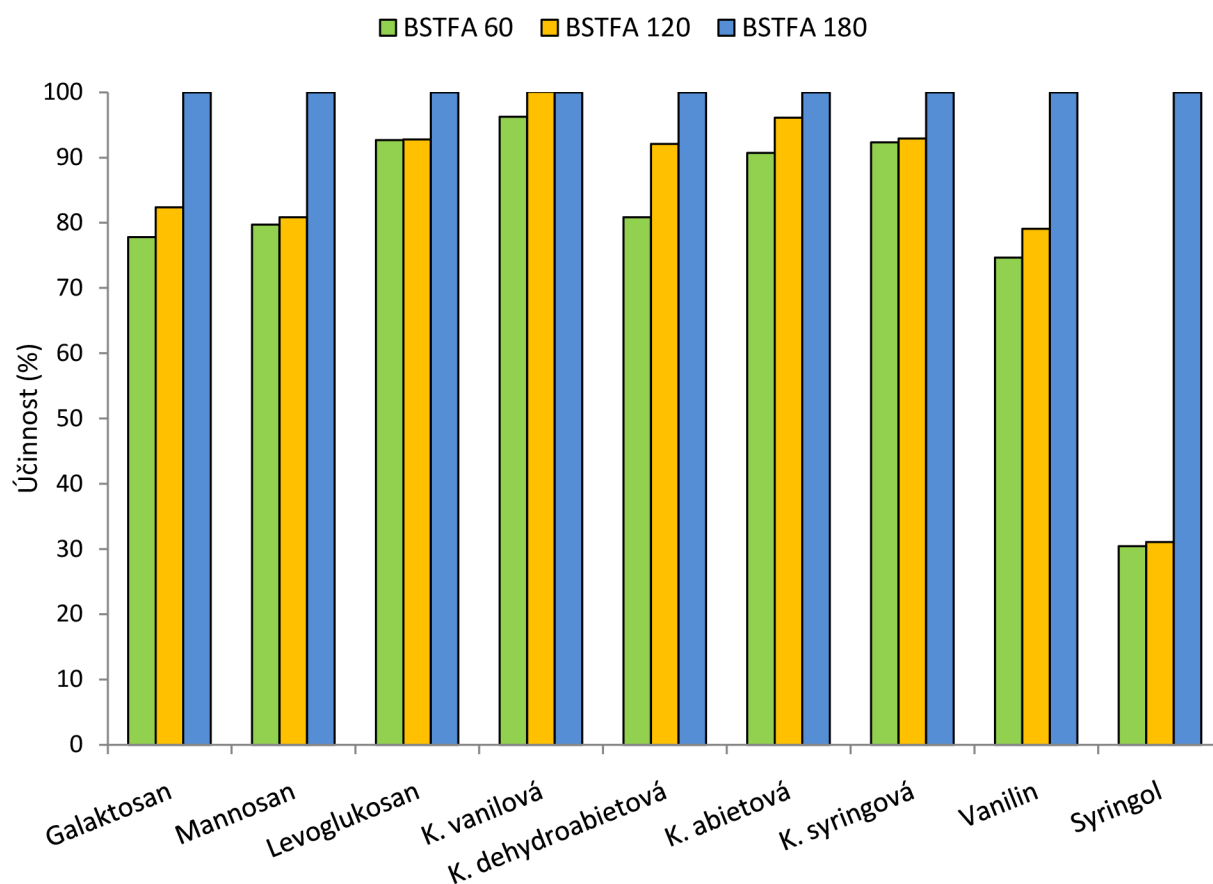


Graf č. 5.4: Závislost účinnosti derivatizace směsi MSTFA na čase derivatizace pro sacharidy

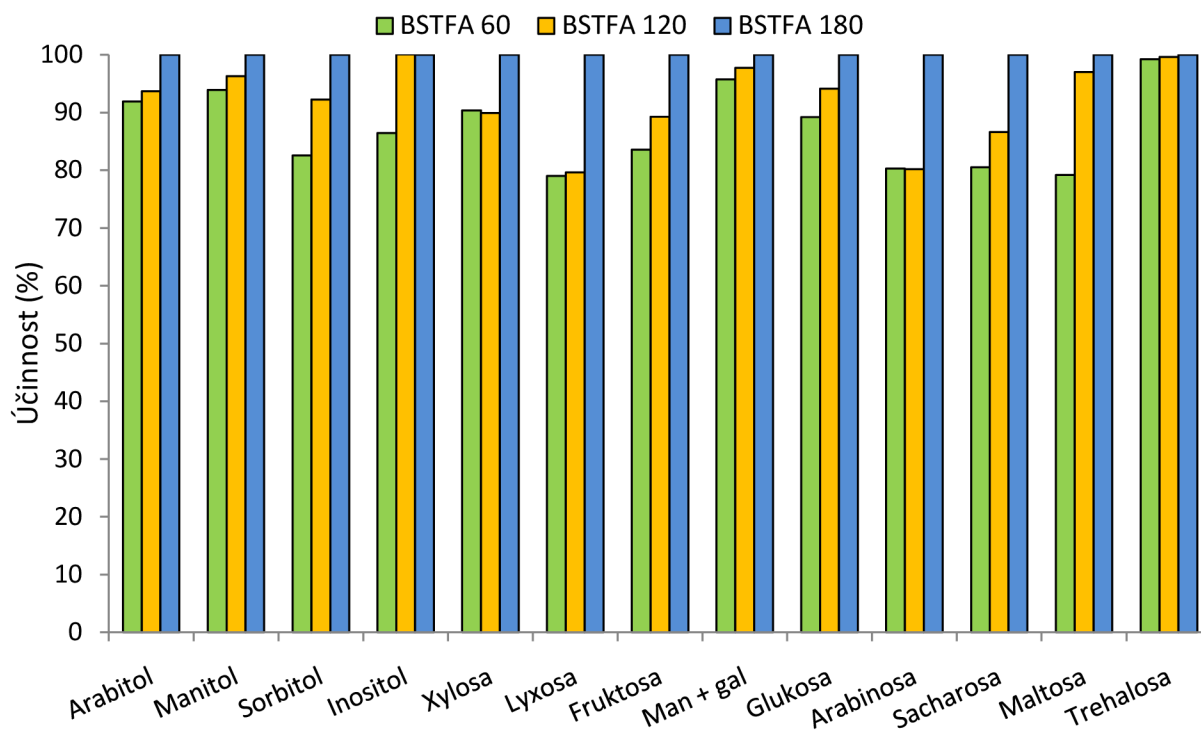
Tabulka č. 5.4: Podmínky derivatizace pro zjištění závislosti účinnosti na čase derivatizace směsí BSTFA pro standardy analyzovaných sloučenin.

Počet vialek	Derivatizační směs	Čas a teplota derivatizace
4	BSTFA s pyridinem (2:1)	1 hodina, 70° C
4	BSTFA s pyridinem (2:1)	2 hodiny, 70° C
4	BSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C

Výsledky zjištěné závislosti jsou uvedeny v **grafech č. 5.5 a 5.6**. Účinnost derivatizace pro čas 60 a 120 minut byla přepočítána přes účinnost pro čas 180 minut (100 % účinnost).



Graf č. 5.5: Závislost účinnosti derivatizace směsí BSTFA na čase derivatizace pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva.



Graf č. 5.6: Závislost účinnosti derivatizace směsí BSTFA na čase derivatizace pro sacharidy

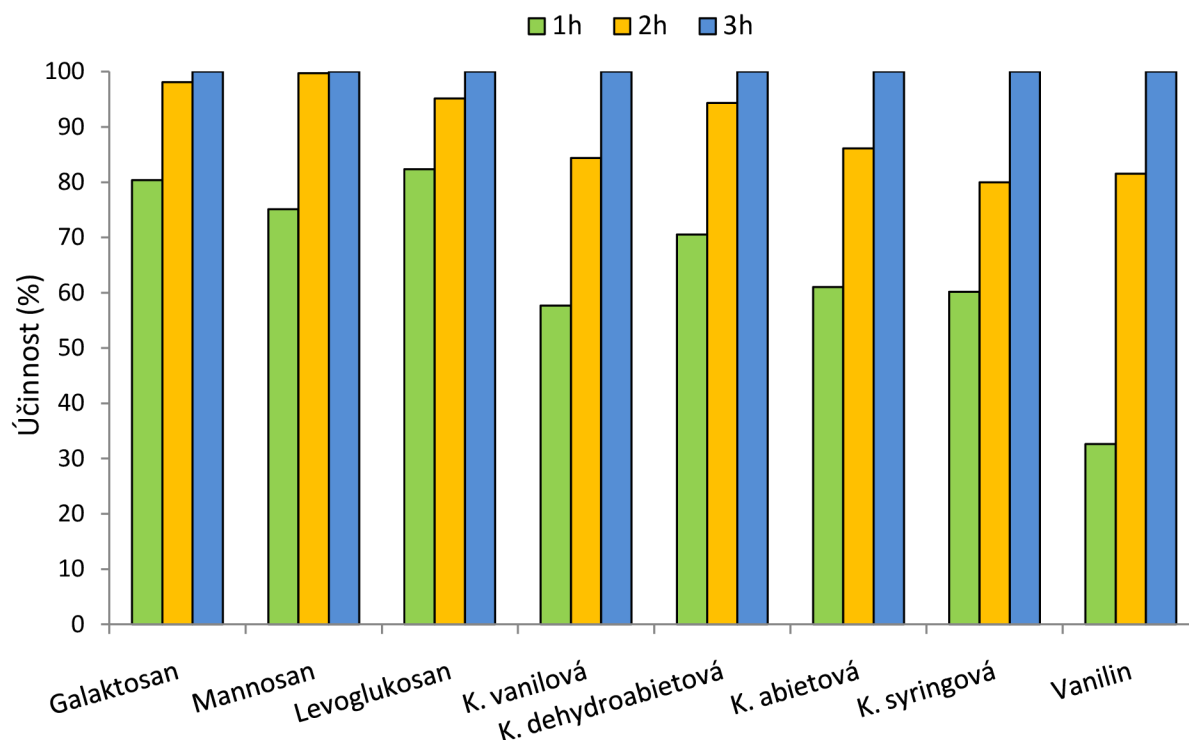
Účinnost derivatizačních směsí BSTFA a MSTFA, v závislosti na čase derivatizace, byla ověřena rovněž na reálném vzorku PM_{2,5} (15. 5. 2010). Celý filtr byl extrahován směsí rozpouštědel MeOH:DCM 1:1 (v/v), o objemu 20 ml. Extrakce probíhala po dobu 30 minut a byla 3x opakována, vždy s novým množstvím rozpouštědla. Získaný extrakt byl zahuštěn na vakuové odparce na objem 12 ml a přefiltrován přes PTFE „syringe“ filtry (13 mm, 0,45 μm, Labicom). Extrakt byl poté rozdělen do 10 vialek s objemem 1 ml extraktu. Extrakt v každé vialce byl odpařen dosucha pod proudem čistého dusíku. Získaný odparek byl poté rozpuštěn ve 40 μl derivatizační směsi MSTFA + 1 % TMCS, v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem, ke které byl přidán nadbytek pyridinu o objemu 100 μl, pro dokonalé rozpuštění odparku. Podmínky derivatizace směsí MSTFA jsou uvedeny **tabulce č. 5.5**.

Tabulka č. 5.5: Podmínky ověření účinnosti derivatizace směsí MSTFA na čase derivatizace pro reálný vzorek

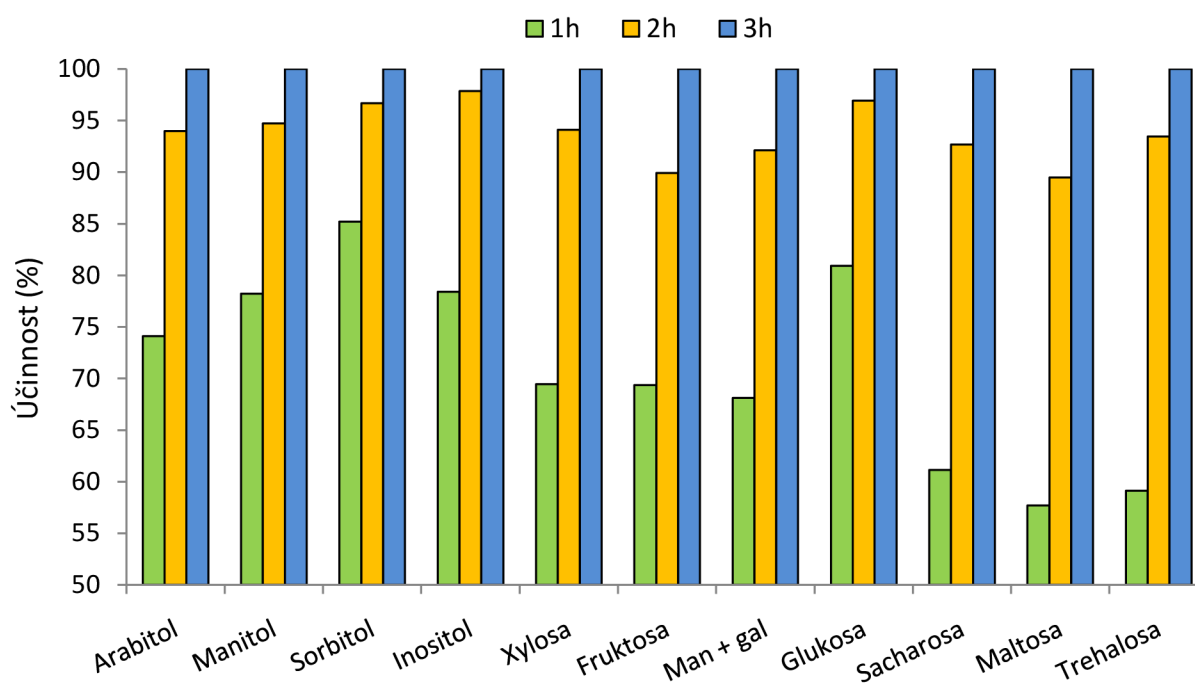
Počet vialek	Derivatizační směs	Čas a teplota derivatizace
3	MSTFA s pyridinem (2:1)	1 hodina, 70° C
3	MSTFA s pyridinem (2:1)	2 hodiny, 70° C
4	MSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C

Po ukončení derivatizace byl derivát v příslušné sadě vialek vždy odpařen pod proudem dusíku a po přidání 1 ml hexanu byl rozpuštěný odparek analyzován GC/MS. Každý vzorek byl analyzován 3x. Výsledky jsou uvedeny v **grafech 5.7 a 5.8**. Účinnost derivatizace byla přepočítána vzhledem k 100% účinnosti po 3 hodinách derivatizace. Jak výsledky se standardy, tak ověření na reálném vzorku potvrzuje, že neúčinnější pro všechny analyzované sloučeniny byla pro MSTFA derivatizace probíhající 180 minut. Pro disacharidy vykazovala

1 - hodinová derivatizace MSTFA velmi malou účinnost. Koncentrace syringolu, lyxosu a arabinosu byly pod limitem detekce.



Graf č. 5.7: Závislost účinnosti derivatizace směsi MSTFA na čase derivatizace pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva (reálný vzorek)



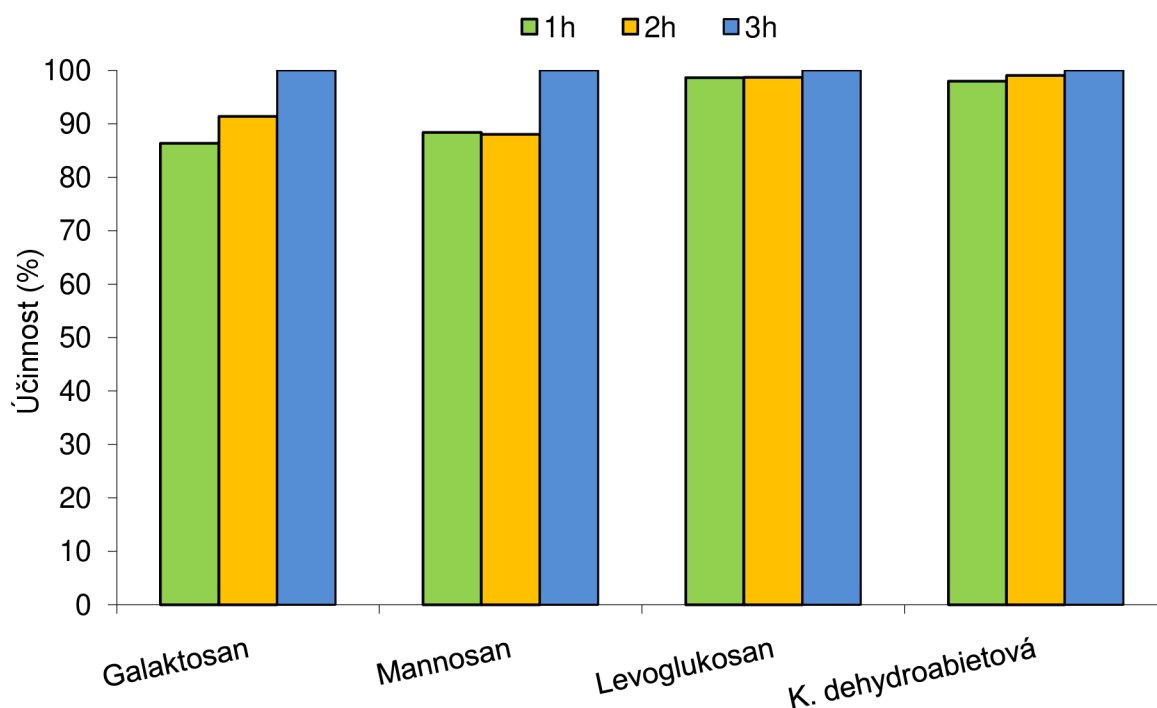
Graf č. 5.8: Závislost účinnosti derivatizace směsi MSTFA na čase derivatizace pro sacharidy (reálný vzorek)

Účinnost derivatizace v závislosti na čase derivatizace pro reálný vzorek byla ověřena rovněž pro derivatizační směs BSTFA. Celý filtr s reálným vzorkem PM_{2,5} (datum odběru 17. 5. 2010) byl extrahován směsí rozpouštědel MeOH:DCM 1:1 (v/v), o objemu 20 ml. Extrakce probíhala po dobu 30 minut a byla 3x opakována, vždy s novým množstvím rozpouštědla. Získaný extrakt byl zahuštěn na vakuové odparce na objem 12 ml a přefiltrován přes PTFE „syringe“ filtry (13 mm, 0,45 μm, Labicom). Extrakt byl poté rozdělen do 10 vialek s objemem 1 ml extraktu. Extrakt v každé vialce byl odpařen dosucha pod proudem čistého dusíku. Takto získaný odparek byl rozpuštěn ve 40 μl derivatizační směsi BSTFA + 1 % TMCS, v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem. K derivatizační směsi byl přidán nadbytek pyridinu o objemu 100 μl, pro dokonalé rozpuštění odparku. Podmínky derivatizace směsi BSTFA jsou uvedeny v **tabulce 5.6**.

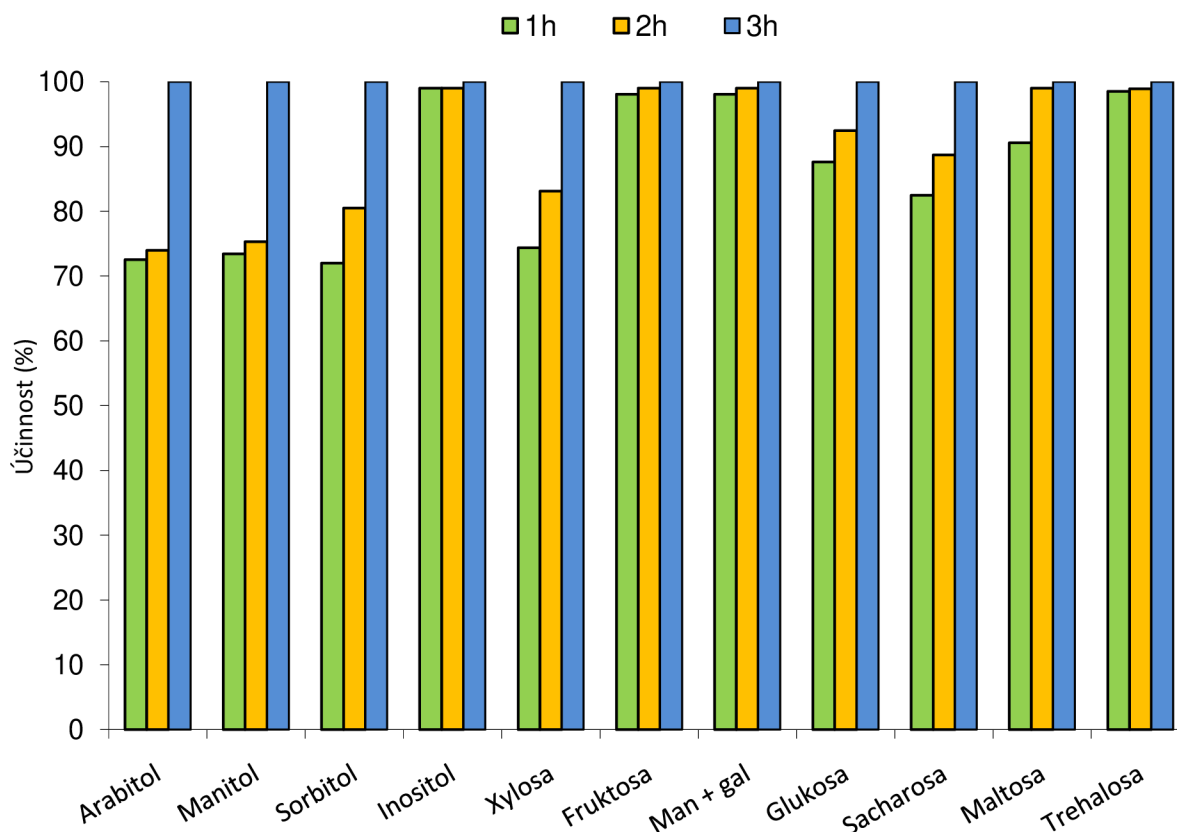
Tabulka č. 5.6: Podmínky ověření účinnosti derivatizace směsi BSTFA na čase derivatizace pro reálný vzorek.

Počet vialek	Derivatizační směs	Čas a teplota derivatizace
3	BSTFA s pyridinem (2:1)	1 hodina, 70° C
3	BSTFA s pyridinem (2:1)	2 hodiny, 70° C
4	BSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C

Po ukončení derivatizace byl derivát v příslušné sadě vialek vždy odpařen pod proudem dusíku a po přidání 1 ml hexanu byl rozpuštěný odparek analyzován GC/MS. Každý vzorek byl analyzován 3x. Účinnost derivatizace byla přepočítána vzhledem k 100% účinnosti po 3 hodinách derivatizace. Závislost účinnosti derivatizační směsi BSTFA na čase derivatizace je znázorněna v **grafech č. 5.9 a 5.10**.



Graf č. 5.9: Závislost účinnosti derivatizace směsi BSTFA na čase derivatizace pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva (reálný vzorek)



Graf č. 5.10: Závislost účinnosti derivatizace směsi BSTFA na čase derivatizace pro sacharidy (reálný vzorek)

Vzhledem k nižší účinnosti derivatizační směsi BSTFA a malým koncentracím sloučenin v reálném vzorku byly hodnoty koncentrací kyseliny vanilové, syringové, abietové, vanilinu, lyxosy a arabinosy pod limitem detekce. U zbylých analyzovaných sloučenin byl prokázán nárůst účinnosti s rostoucí dobou derivatizace BSTFA a to jak pro reálný vzorek aerosolu frakce PM_{2,5}, tak i pro standardy analyzovaných sloučenin. Derivatizace po dobu 180 min byla nejúčinnější pro všechny analyzované sloučeniny.

Na základě získaných výsledků byla derivatizace analyzovaných sloučenin v následujících experimentech prováděna po čas 180 minut jak pro MSTFA, tak pro BSTFA.

5.1.2.3 Vliv množství přidaného pyridinu na účinnost derivatizace

Pro dosažení maximální účinnosti derivatizace bylo optimalizováno množství přidaného pyridinu k 40 µl derivatizační směsi. Přidání nadbytku pyridinu bylo důležité zejména při analýze reálných vzorků, kdy získaný odparek extraktu obsahoval velké množství látek a pro účinnou derivatizaci bylo nutné odparek dostatečně rozpustit.

Pro srovnání vlivu přidaného pyridinu bylo do 12 vialek napipetováno 100 µl směsi standardů o koncentraci 10 µg/ml. Směs standardů v každé vialce byla odpařena proudem čistého dusíku a získaný odparek byl rozpuštěn ve 40 µl derivatizační směsi MSTFA + 1 % TMCS ve směsi s pyridinem 2:1 (v/v). Do jedné sady vialek nebylo přidáno žádné množství pyridinu navíc. Do ostatních sad vialek bylo přidáno vždy určité množství pyridinu a to 100, 200, 400, 600, 800 a 1000 µl pyridinu. Derivatizace probíhala 180 minut, za teploty 70° C.

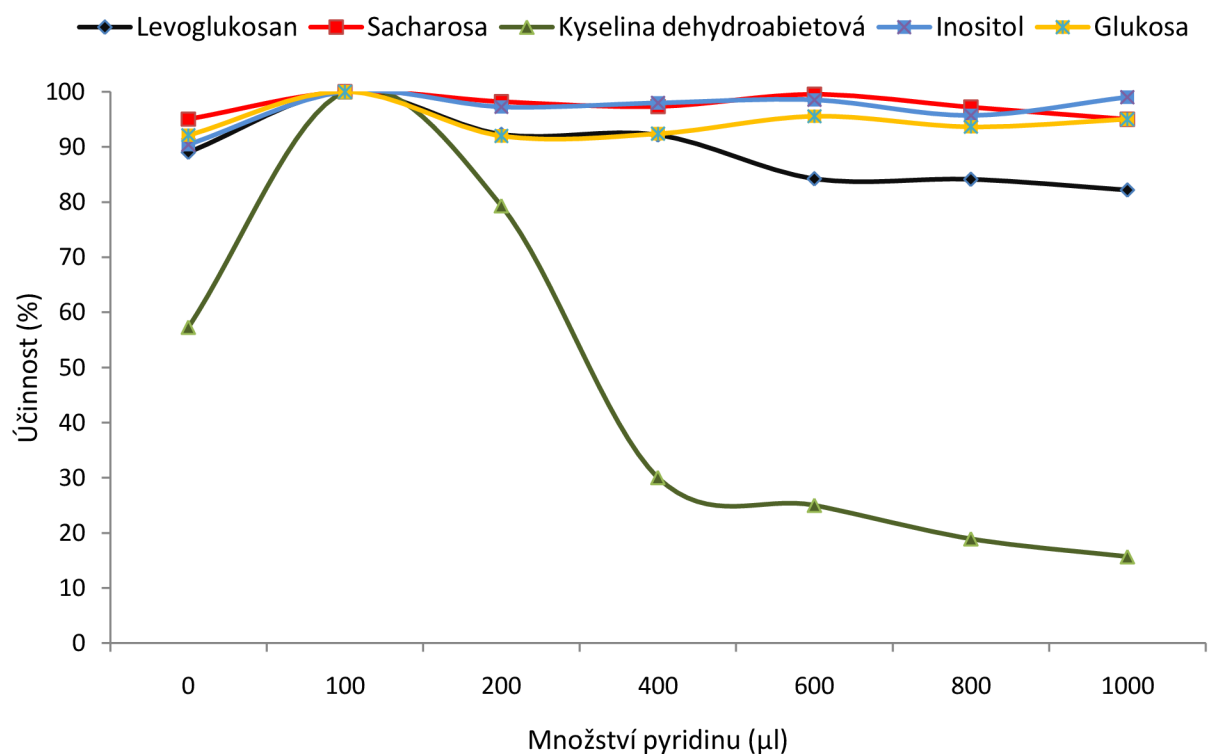
Podmínky derivatizace pro zjištění optimálního množství přidaného pyridinu jsou uvedeny v **tabulce č. 5.7**.

Tabulka č. 5.7: Podmínky derivatizace pro optimalizaci množství pyridinu

Počet vialek	Derivatizační směs*	Pyridin (μl)	Čas a teplota derivatizace
2	MSTFA + 1% TMCS	0	3 hodiny, 70° C
2	MSTFA + 1% TMCS	100	3 hodiny, 70° C
2	MSTFA + 1% TMCS	200	3 hodiny, 70° C
2	MSTFA + 1% TMCS	400	3 hodiny, 70° C
2	MSTFA + 1% TMCS	600	3 hodiny, 70° C
2	MSTFA + 1% TMCS	800	3 hodiny, 70° C
2	MSTFA + 1% TMCS	1000	

* Derivatizační směs MSTFA + 1% TMCS v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem.

Po ukončení derivatizace bylo činidlo spolu s pyridinem ze všech vialek odpařeno proudem čistého dusíku a získaný odparek byl analyzován v 1 ml hexanu technikou GC/MS. Každý vzorek byl analyzován 3x. Maximální odezva pro všechny sloučeniny byla získána po přidání **100** μl pyridinu k objemu derivatizační směsi. Nejnižší odezva byla získána analýzou derivátů, získaných derivatizací **bez** přídavku pyridinu navíc. Pro markery spalování dřeva klesala účinnost derivatizace s rostoucím objemem přidaného pyridinu (200-1000 μl). U anhydridů monosacharidů a sacharidů byla účinnost s rostoucím objemem pyridinu (200-1000 μl) konstantní. Na základě těchto výsledků bylo k derivatizační směsi vždy přidáno 100 μl pyridinu navíc, aby bylo zajištěno dokonalé rozpuštění odparku a následná maximální účinnost derivatizace. V **grafu č. 5.11** je znázorněna závislost účinnosti derivatizace na množství přidaného pyridinu pro zástupce z každé skupiny analyzovaných sloučenin.



Graf č. 5.11: Závislost účinnosti derivatizace na množství přidaného pyridinu

5.1.2.4 Srovnání derivatizačních směsí MSTFA a BSTFA

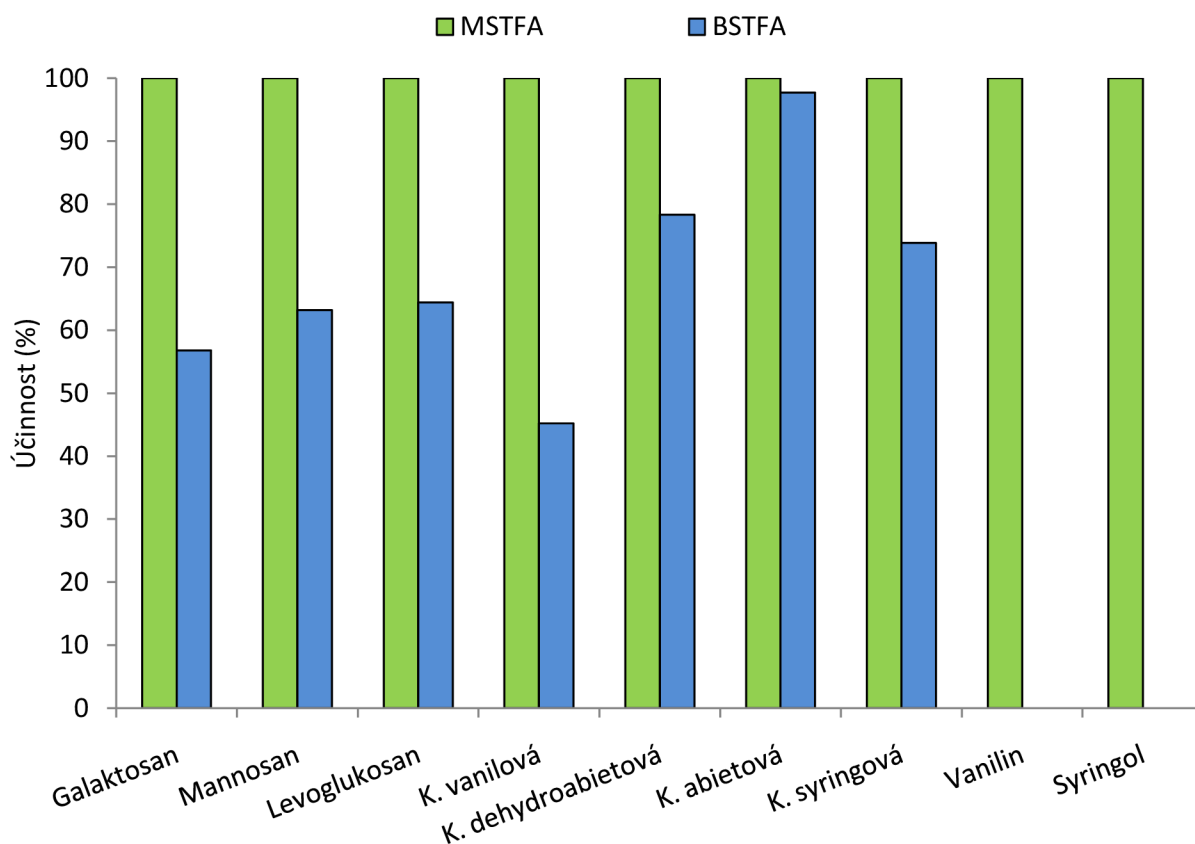
Účinnost derivatizačních směsí MSTFA a BSTFA byly porovnány na standardech analyzovaných sloučenin i na reálném vzorku aerosolu frakce PM_{2,5}.

Pro srovnání derivatizačních směsí pro standardy analyzovaných sloučenin bylo do 12 vialek napipetováno 100 µl směsi standardů všech analyzovaných sloučenin o koncentraci 10 µg/ml. Směs standardů byla odpařena proudem čistého dusíku a získaný odparek v dané sadě 6 vialek rozpuštěn 40 µl derivatizační směsí MSTFA a BSTFA. K derivatizační směsi bylo přidáno 100 µl pyridinu pro dokonalé rozpuštění odparku. Podmínky derivatizace jsou uvedeny v **tabulce č. 5.8**.

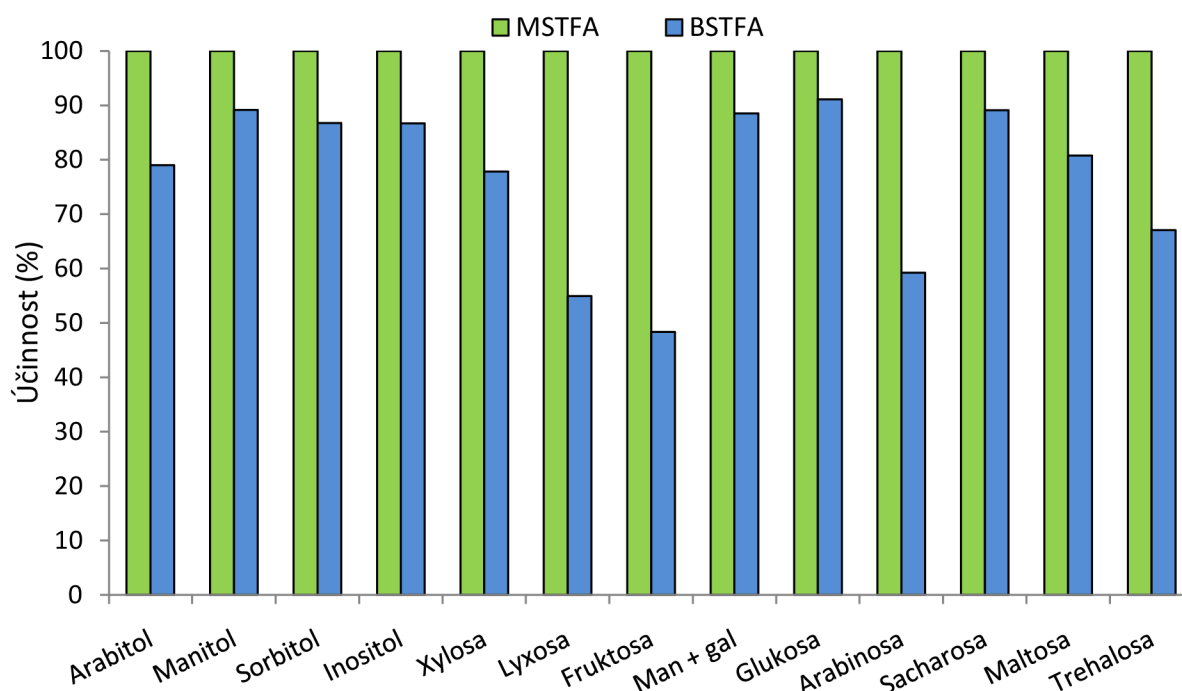
Tabulka č. 5.8: Podmínky derivatizace pro srovnání derivatizačních směsí pro standardy analyzovaných sloučenin

Počet vialek	Derivatizační směs	Čas a teplota derivatizace
6	BSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C
6	MSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C

Po ukončení derivatizace byla derivatizační směs odpařena proudem čistého dusíku a získaný odparek byl analyzován v 1 ml hexanu technikou GC/MS. Výsledky srovnání derivatizačních směsí jsou zobrazeny v **grafech č. 5.12 a 5.13**. Derivatizační směsi MSTFA byla přidělena účinnost 100%.



Graf č. 5.12: Srovnání účinnosti derivatizačních směsí pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva



Graf č. 5.13: Srovnání účinnosti derivatizačních směsí pro sacharidy

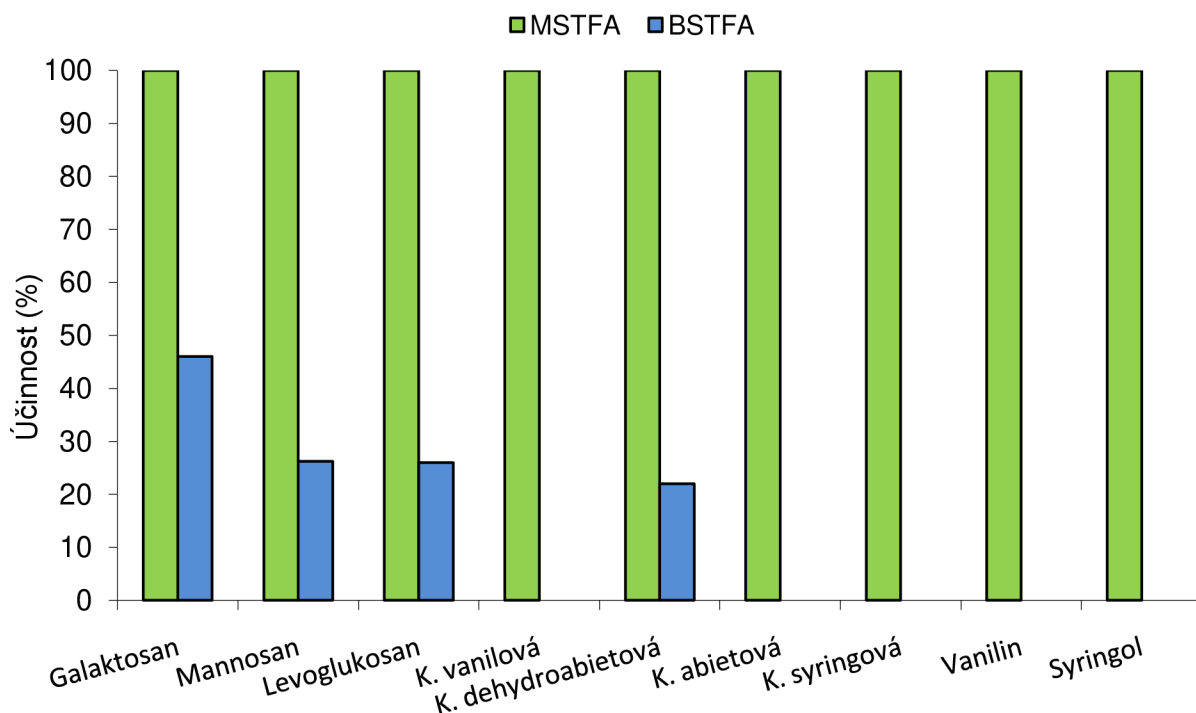
Po derivatizaci směsí BSTFA nebyly vanilin ani syringol detekovány. Pro ostatní analyzované sloučeniny vykazovala derivatizační směs MSTFA vyšší účinnost. Derivatizační směs BSTFA dosahovala rozmezí 45-95 % účinnosti derivatizační směsí MSTFA.

Účinnost derivatizačních směsí MSTFA a BSTFA byla porovnána rovněž na reálném vzorku aerosolu PM_{2,5}, (datum odběru 14. 5. 2010). Po extrakci celého filtru směsí MeOH:DCM 1:1 (v/v), byl získaný extrakt zakoncentrován na objem 12 ml na vakuové odparce a přefiltrován přes PTFE „syringe“ filtry (13 mm, 0,45 μm, Labicom). Poté byl extrakt rozdělen po 1 ml do 10 vialek a odpařen proudem čistého dusíku dosucha. Získaný odparek byl rozpuštěn ve 40 μl derivatizační směsí, ke které bylo přidáno 100 μl pyridinu pro dokonalé rozpuštění odparku. Derivatizace probíhala 3 hodiny, za teploty 70 °C. Po ukončení derivatizace bylo činidlo odpařeno dusíkem a deriváty byly po přidání 1 ml hexanu analyzovány technikou GC/MS. Každý vzorek byl analyzován 3x, získané hodnoty byly zprůměrovány a porovnány. Podmínky derivatizace pro srovnání účinnosti derivatizačních směsí jsou uvedeny v **tabulce č. 5.9**.

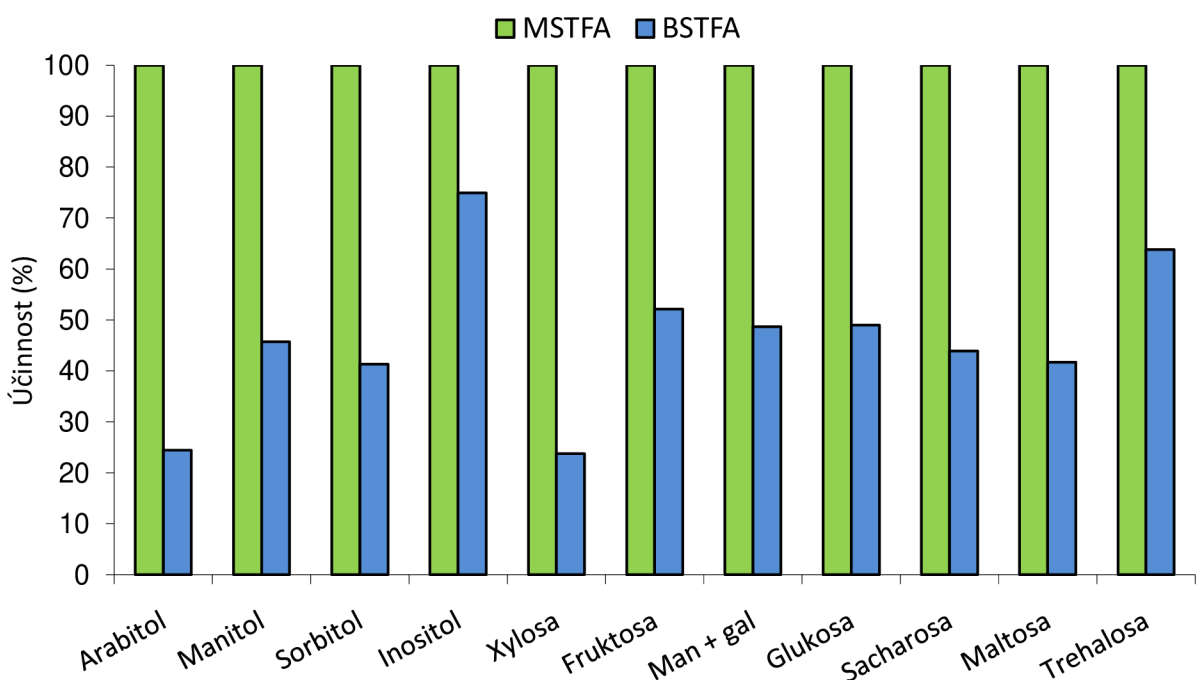
Tabulka č. 5.9: Podmínky derivatizace pro srovnání derivatizačních směsí na reálném vzorku

Počet vialek	Derivatizační směs	Čas a teplota derivatizace
5	BSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C
5	MSTFA s pyridinem (2:1)	3 hodiny, 70° C

Výsledky srovnání derivatizačních činidel pro reálný vzorek jsou znázorněny v **grafech č. 5.14 a 5.15**. Účinnost činidla BSTFA byla přepočítána vzhledem k MSTFA (100% účinnost).



Graf č. 5.14: Srovnání účinnosti směsí MSTFA a BSTFA pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva (reálný vzorek)



Graf č. 5.15: Srovnání účinnosti směsí MSTFA a BSTFA pro sacharidy (reálný vzorek)

Při derivatizaci reálného vzorku PM_{2,5} směsí BSTFA + 1% TMCS s pyridinem 2:1 (v/v) nebyly kyselina vanilová, abietová, syringová, lyxosa, arabinosa, vanilin ani syringol detekovány. Derivatizační směs BSTFA má nižší účinnost pro všechny analyzované sloučeniny. Koncentrace lyxosy a arabinosy se nacházely pod limitem detekce rovněž i po derivatizaci směsí MSTFA + 1% TMCS s pyridinem 2:1 (v/v).

Pro všechny analyzované látky ze skupiny mono-, di-sacharidů i alditolů má derivatizační směs BSTFA ve srovnání se směsí MSTFA nižší účinnost (v rozmezí 25-75%). Na základě získaných výsledků byla pro derivatizaci sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva v atmosférickém aerosolu frakce PM_{2,5} vybrána směs MSTFA + 1% TMCS v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem.

5.1.2.5 *Stabilita derivátů analyzovaných sloučenin*

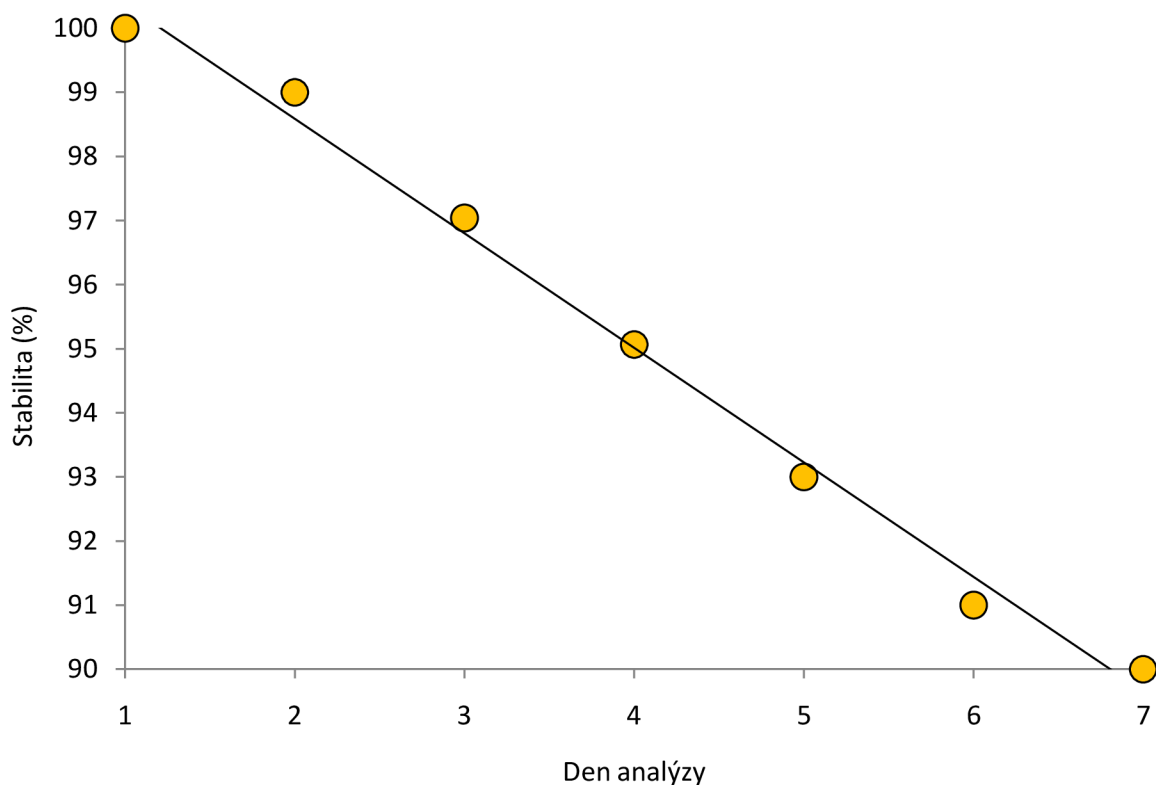
U derivátů analyzovaných sloučenin byla sledována jejich stabilita po derivatizaci směsí MSTFA a BSTFA. Směs standardů o koncentraci 10 µg/ml a objemu 1,5 ml byla odpařena pod proudem čistého dusíku a následně derivatizována činidlem MSTFA o objemu 40 µl, ke kterému bylo přidáno 100 µl pyridinu. Derivatizace probíhala 3 hodiny, za teploty 70 °C. Po ukončení derivatizace bylo činidlo odpařeno dusíkem a odparek byl rozpuštěn v 1 ml hexanu a zředěn na koncentraci 1 µg/ml, získaný objem tak činil 15 ml. Stejný postup byl aplikován pro přípravu směsi derivátů po derivatizaci činidlem BSTFA. První analýza derivátů proběhla v den derivatizace, každý následující den byla analýza derivátů opakována, celkem po dobu sedmi dnů. Signál v průběhu sedmi dnů postupně klesal, s výjimkou xylosy po derivatizaci směsí BSTFA i MSTFA, glukosy a manitolu po derivatizaci směsí BSTFA a sorbitolu po derivatizaci směsí MSTFA, u kterých byla odezva konstantní. Signál klesal pravděpodobně v důsledku snižující se koncentrace derivátů, následkem jejich postupné degradace. Potvrdilo se, že deriváty nejsou stabilní i přes jejich uložení v chladu. Na základě těchto výsledků (**tabulka č. 5.10 a 5.11**) byly všechny analýzy prováděny v tentýž den jako derivatizace.

Tabulka č. 5.10: Stabilita derivátů markerů spalování dřeva (%), hodnota 100 % odpovídá koncentraci 1 µg/ml

Den analýzy	Galaktosan	Mannosan	Levoglukosan	Kyselina vanilová	Kyselina dehydroab.	Kyselina syringová	Kyselina abietová	Vanilin	Syringol
BSTFA	1.	100	100	100	100	100	100	100	100
	2.	99	100	97	100	95	99	98	97
	3.	98	97	99	96	89	95	89	90
	4.	98	97	97	94	82	94	81	87
	5.	97	95	98	92	78	91	75	79
	6.	96	94	98	90	70	89	68	75
	7.	96	93	98	85	67	87	60	68
MSTFA	1.	100	100	100	100	100	100	100	100
	2.	97	96	99	84	98	95	87	94
	3.	96	96	97	82	87	81	85	95
	4.	93	94	95	68	78	73	76	90
	5.	91	92	93	61	71	67	68	88
	6.	89	90	91	50	61	55	63	84
	7.	86	88	90	43	57	45	54	80

Tabulka č. 5.11: Stabilita derivátů sacharidů (%), hodnota 100 % odpovídá koncentraci 1 µg/ml.

Den analýzy	Xyloza	Lyxosa	Arabinosa	Fruktosa	Manosa + galaktosa	Glukosa	Arabitól	Manitol	Sorbitól	Inositol	Sacharosa	Maltosa	Trehalosa
BSTFA	1.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2.	99	99	99	96	100	100	99	100	99	97	99	100
	3.	100	90	100	94	100	100	95	100	89	94	89	99
	4.	100	88	100	91	100	99	94	100	80	91	85	99
	5.	100	80	99	87	99	99	92	99	73	91	79	98
	6.	100	75	99	83	100	99	89	100	65	86	73	98
	7.	100	65	99	81	98	99	85	99	59	82	68	97
MSTFA	1.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2.	100	100	97	99	99	95	98	98	98	99	100	89
	3.	100	99	99	96	97	99	100	93	99	95	91	90
	4.	100	97	98	94	94	98	99	88	99	93	88	82
	5.	100	97	98	92	95	95	99	85	98	91	83	75
	6.	100	98	97	90	91	93	99	80	98	89	78	69
	7.	99	95	97	88	89	95	99	75	98	84	74	63



Graf č. 5.16: Zobrazení stability levoglucosanu po derivatizaci směsi MSTFA+1 % TMCS

U derivátů analyzovaných sloučenin získaných použitím derivatizační směsi MSTFA byla pozorována nižší stabilita. Intenzita jejich signálu v průběhu sedmi dnů klesala výrazněji zejména u anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva.

5.1.2.6 Reprodukovatelnost derivatizace

U procesu derivatizace byla rovněž odzkoušena její reprodukovatelnost při použití derivatizační směsi MSTFA i BSTFA. Do 20 vialek bylo napipetováno 100 μ l směsi všech standardů, o koncentraci 10 μ g/ml, směs byla odpařena dosucha pod proudem čistého dusíku. Odparek byl rozpuštěn přidáním 40 μ l derivatizační směsi MSTFA + 1 % TMCS (10 vialek) a směsi BSTFA + 1 % TMCS (10 vialek). Ke směsím bylo přidáno 100 μ l pyridinu pro dokonalé rozpuštění. Derivatizace probíhala 3 hodiny, za teploty 70 °C. Výsledek reprodukovatelnosti byl vyhodnocen na základě relativní směrodatné odchylky získaných dat a je znázorněn v **tabulce č. 5.12 a 5.13**.

Tabulka č. 5.12: Relativní směrodatná odchylka S_r (%) pro reprodukovatelnost derivatizace markerů spalování dřeva.

Koncentrace 1 μ g/ml	Arabinopyranosid	Galaktosan	Mannosan	Levoglukosan	Kyselina vanilová	Kyselina dehydroabietová	Kyselina syringová	Kyselina abietová	Vanilin	Syringol
S_r BSTFA	3,6	4,1	5,3	5,6	ND	5,1	ND	5,5	ND	4,6
S_r MSTFA	5,7	5,7	4,6	6,5	5,0	5,9	6,0	5,6	5,0	4,9

Tabulka č. 5.13: Směrodatná odchylka S_r (%) pro reprodukovatelnost derivatizace sacharidů

Koncentrace 1 μ g/ml	Arabinosa	Xylosa	Lyxosa	Fruktosa	Man + gal	Glukosa	Arabitol	Manitol	Sorbitol	Inositol	Sacharosa	Maltosa	Trehalosa
S_r BSTFA	4,8	4,9	4,8	3,0	3,7	3,0	4,2	3,0	3,8	3,8	5,1	4,2	4,3
S_r MSTFA	5,8	5,1	5,3	5,0	3,8	5,7	4,9	5,7	5,4	3,7	4,6	4,3	3,3

Při použití derivatizační směsi BSTFA bylo dosaženo obecně lepší reprodukovatelnosti, ale její derivatizační účinnost je nižší než u směsi MSTFA.

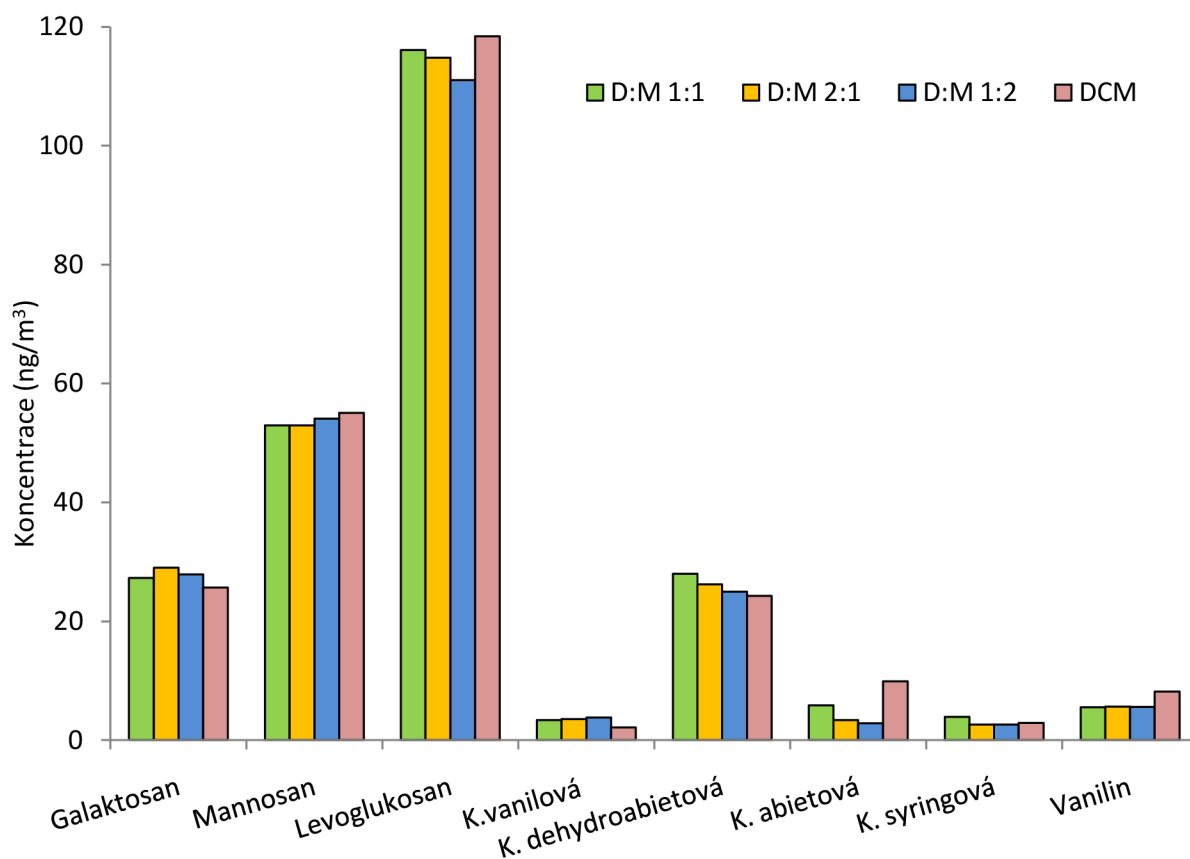
Pro derivatizaci sacharidů, anhydridů sacharidů a markerů spalování dřeva, byla na základě výsledků, získaných z výše uvedených experimentů, vybrána derivatizační směs MSTFA + 1 % TMCS, v poměru s pyridinem 2:1 (v/v), ke které bylo vždy přidáno 100 μ l pyridinu navíc, pro dokonalé rozpuštění odparku a následně dostatečnou derivatizaci analyzovaných sloučenin. Derivatizace probíhala 180 minut, za teploty 70 °C. Získané deriváty analyzovaných sloučenin byly analyzovány GC/MS v den provedení derivatizace.

5.1.3 Výběr rozpouštědla

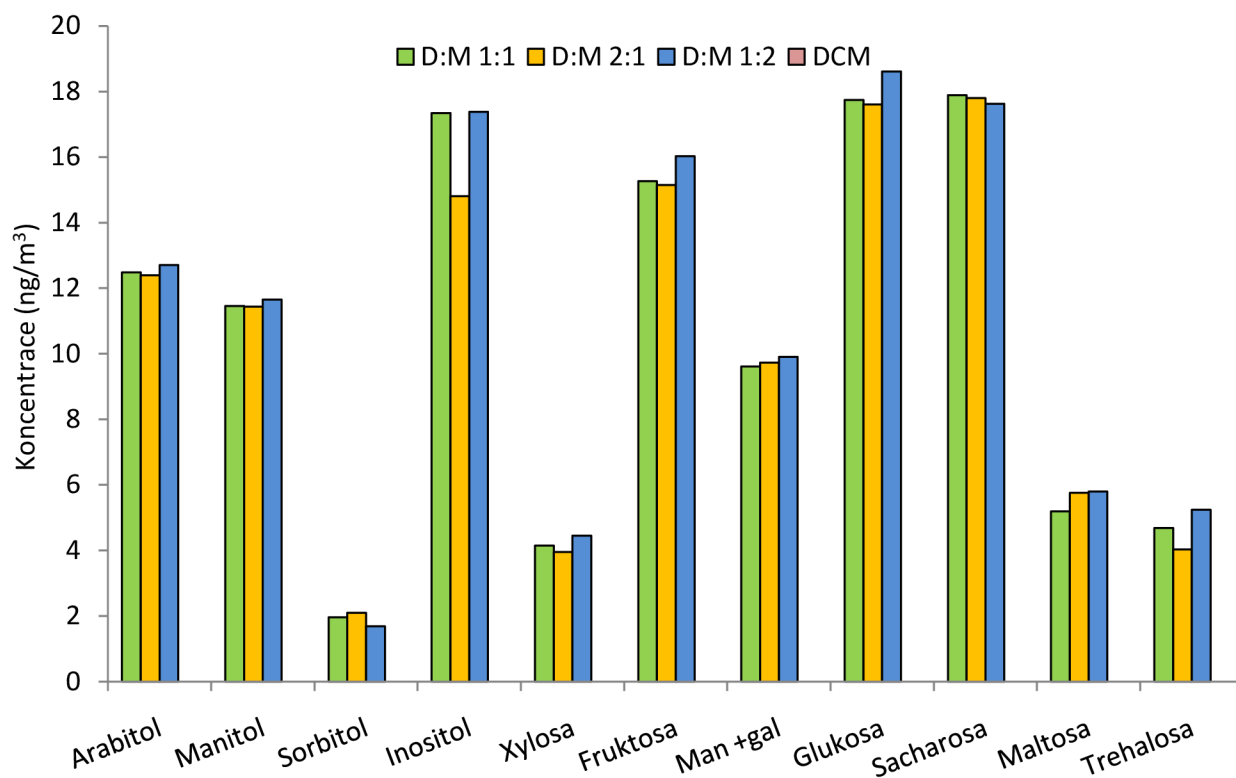
V publikované literatuře byly pro extrakci organických sloučenin v aerosolech použity methanol, dichlormethan nebo směs obou rozpouštědel v určitém poměru 2:1, 1:1 nebo 1:2 (v/v) [18, 20, 21].

Srovnání účinnosti jednotlivých směsí rozpouštědel pro extrakci sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva bylo provedeno na reálném vzorku aerosolu frakce PM_{2.5}. Srovnání rozpouštědel bylo provedeno na třech různých filtrech (datum odběru 1. - 3. 11. 2010) pro MeOH, DCM a jejich směsi 1:1, 2:1 1:2 (v/v). Filtr byl vždy rozstříhán na desetiny, které byly zváženy na mikrováhách a na které bylo nakapáno 25 μl „recovery“ standardu arabinopyranosidu o koncentraci 200 μg/ml, připraveného v methanolu.

Pro srovnání rozpouštědel byly vždy dvě protilehlé části filtru extrahovány stejnou směsí rozpouštědel dle postupu popsáno v experimentální části. Získaný extrakt byl zakonzentrován na vakuové odparce a filtrován přes PTFE „syringe“ filtry (13 mm, 0,45 μm, Labicom). Po odpaření dosucha pod proudem čistého dusíku byl odparek derivatizován 40 μl derivatizačního činidla MSTFA + 1 % TMSI, v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem. Ke směsi bylo přidáno 100 μl pyridinu pro dokonalé rozpuštění odparku. Po ukončení derivatizace byl vzorek rozpuštěn v 1 ml hexanu a analyzován GC/MS. Získané plochy píků byly přepočítány přes vnitřní standard, hmotnost analyzované desetiny a množství odebraného vzduchu. Výsledky porovnání jednotlivých směsí rozpouštědel na všech třech reálných vzorcích aerosolu vyšly srovnatelně. V **grafech č. 5.17 a 5.18** jsou pak znázorněny výsledky jednoho z těchto tří srovnání směsí.



Graf č. 5.17: Porovnání účinnosti rozpouštědel pro anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva



Graf č. 5.18: Porovnání účinnosti rozpouštědel pro sacharidy

Ze získaných výsledků srovnání rozpouštědel je patrné, že srovnávané směsi rozpouštědel MeOH a DCM pro současnou extrakci sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva nevykazují velké rozdíly v účinnosti extrakce. Hodnoty koncentrace syringolu, lyxosu a arabinosu se pokaždé nacházely pod limitem detekce.

Z výsledků je zřejmé, že dichlormethan byl účinný pouze pro extrakci markerů spalování dřeva a anhydridů monosacharidů, zatímco účinnost extrakce sacharidů dichlormethanem byla nedostatečná v důsledku jeho nižší polarita ve srovnání s methanolem. Vysoká polarita methanolu měla naopak za příčinu vyextrahování velkého množství i nestanovovaných polárních látek, které způsobovaly špatnou reprodukovatelnost derivatizace a následně vysoké pozadí při detekci analyzovaných sloučenin, proto bylo od použití čistého methanolu upuštěno.

Směs DCM:MeOH 1:2 (v/v) vzhledem k vyššímu podílu methanolu opět vede k extrakci velkého množství sloučenin, výsledkem je špatná reprodukovatelnost při vyšších koncentracích analyzovaných látek. V **tabulce 5.14** je uvedena relativní směrodatná odchylka pro „recovery“ standard (RS) methyl-β-L-arabinopyranosid přidaného na filtr s reálným vzorkem po extrakci 3 částí směsi MeOH:DCM 1:1 (v/v) a 3 částí směsi MeOH:DCM 2:1 (v/v). V důsledku horší reprodukovatelnosti byla směs DCM:MeOH 1:2 (v/v) rovněž vyloučena z dalšího užití.

Směsi DCM:MeOH 2:1 (v/v) a DCM:MeOH 1:1 (v/v) vykazovaly u většiny stanovovaných sloučenin velmi podobnou účinnost. Z tohoto důvodu a z praktického hlediska snížení pravděpodobnosti chyby, v podobě nepřesné opakované přípravy směsi rozpouštědel, byla pro extrakce aerosolů vybrána směs DCM:MeOH 1:1 (v/v). Použití této směsi rozpouštědel vykazovalo rovněž reprodukovatelné výsledky (**tabulka č. 5.14**).

Tabulka č. 5.14: Reprodukovatelnost extrakce směsí DCM:MeOH 1:1 a 1:2 (v/v) pro „recovery“ standard (RS) methyl- β -L-arabinopyranosid – (S_r) – relativní směrodatná odchylka

Směs rozpouštědel	Plocha RS	S_r (%)
DCM:MeOH 1:1 (v/v)	21135106	2,1
	20294609	
	20434284	
DCM:MeOH 1:2 (v/v)	20897261	9,5
	18184930	
	17351678	

Na základě získaných výsledků byla pro společnou extrakci sacharidů, anhydridů sacharidů a markerů spalování dřeva vybrána směs rozpouštědel MeOH:DCM 1:1 (v/v).

5.1.4 Reprodukovatelnost metody

Reprodukovatelnost metody pro současnou analýzu sacharidů, anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva byla změřena na reálném vzorku aerosolu frakce PM_{2,5} (datum odběru 4. 11. 2010). Filtr byl rozstříhán na deset přibližně stejných částí, které byly zváženy na mikrováhách. Každá desetina filtru byla rozstříhána na tenké proužky. Na proužky příslušné desetině filtru bylo vždy nakapáno 25 μ l „recovery“ standardu methyl- β -L-arabinopyranosidu o koncentraci 200 μ g/ml. Proužky jednotlivých částí byly vloženy do 20 ml vialek, do kterých bylo nalito 20 ml směsi rozpouštědel MeOH:DCM 1:1 (v/v). Extrakce probíhala za pomoci ultrazvukových vln po dobu 30 minut a byla zopakována celkem 3x, vždy s novou dávkou rozpouštědla. Extrakty z každé části filtru byly zahuštěny na vakuové odparce na objem cca 2 ml, který byl zfiltrován přes PTFE „syringe“ filtry (13 mm, 0,45 μ m, Labicom). Po odpaření extraktu pod proudem čistého dusíku byl získaný odparek derivatizován činidlem MSTFA + 1% TMCS, ve směsi s pyridinem 2:1 (v/v) a pro dokonalé rozpuštění odparku, bylo ke směsi přidáno 100 μ l pyridinu navíc. Derivatizace probíhala 3 hodiny, za teploty 70 °C. Po ukončení derivatizace bylo činidlo v každé vialce odpařeno proudem dusíku. Získaný odparek byl rozpuštěn v 1 ml hexanu a analyzován GC/MS. Získané plochy píků byly přepočítány přes vnitřní standard, hmotnost příslušné části filtru a množství odebraného vzduchu. Výsledky měření jsou uvedeny v **tabulce č. 5.15 a 5.16**.

Tabulka č. 5.15: Průměrné koncentrace anhydridů monosacharidů a markerů spalování dřeva (ng/m^3), získaných analýzou 10 částí filtru, - S_r – relativní směrodatná odchylka (%)

	Galaktosan	Mannosan	Levoglukosan	Kyselina vanilová	Kyselina dehydroab.	Kyselina syringová	Vanilin	Kyselina abietová
(ng/m^3)	25,8	65,1	418,4	3,1	44,3	1,3	5,6	2,2
S_r (%)	1,5	1,4	0,7	2,3	0,5	5,0	3,4	2,1

Tabulka č. 5.16: Průměrné koncentrace sacharidů (ng/m^3), získaných analýzou 10 částí filtru, S_r – relativní směrodatná odchylka (%)

	Arabitol	Xylosa	Fruktosa	Mannosa + galaktosa	Glukosa	Manitol	Sorbitol	Inositol	Saharosa	Maltosa	Trehalosa
(ng/m^3)	6,2	2,4	6,1	7,4	7,3	5,3	3,2	48,7	13,8	6,4	2,7
S_r (%)	5,7	4,5	3,2	2,5	3,1	2,9	4,5	3,0	5,7	5,5	6,0

Ze získaných hodnot koncentrací byla vypočtena relativní směrodatná odchylka, která nabývala pro analyzované sloučeniny maxima 6 %.

5.1.5 Mez detekce a mez stanovitelnosti

Mez detekce (LOD) odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu. Lze ji vyjádřit jako trojnásobek směrodatné odchylky šumu. Mez stanovitelnosti (LOQ) odpovídá koncentraci analytu, pro kterou je přesnost stanovení takové, že umožňuje kvantitativní vyhodnocení. Obvykle se uvádí jako desetinásobek směrodatné odchylky šumu [65]. Hodnoty meze detekce a meze stanovitelnosti pro analyzované sloučeniny jsou uvedeny v **tabulce č. 5.17**.

Tabulka č. 5.17: Mez detekce a mez stanovitelnosti

	Mez detekce LOD (ng/m ³)	Mez stanovitelnosti LOQ (ng/m ³)
Galaktosan	0,01	0,03
Mannosan	0,02	0,08
Levoglukosan	0,03	0,09
Glukosa	0,01	0,04
Galaktosa	0,02	0,07
Mannosa	0,10	0,32
Xylosa	0,06	0,19
Lyxosa	0,15	0,50
Arabinosa	0,10	0,39
Fruktosa	0,08	0,28
Arabitol	0,17	0,58
Manitol	0,05	0,17
Sorbitol	0,05	0,17
Inositol	0,07	0,26
Sacharosa	0,05	0,14
Maltosa	0,13	0,44
Trehalosa	0,08	0,25
Syringol	0,23	0,75
Vanilin	0,13	0,45
Kyselina abietová	0,26	0,88
Kyselina dehydroabietová	0,44	1,48
Kyselina vanilová	0,63	2,10
Kyselina syringová	1,39	4,62

5.2 Analýza reálných vzorků

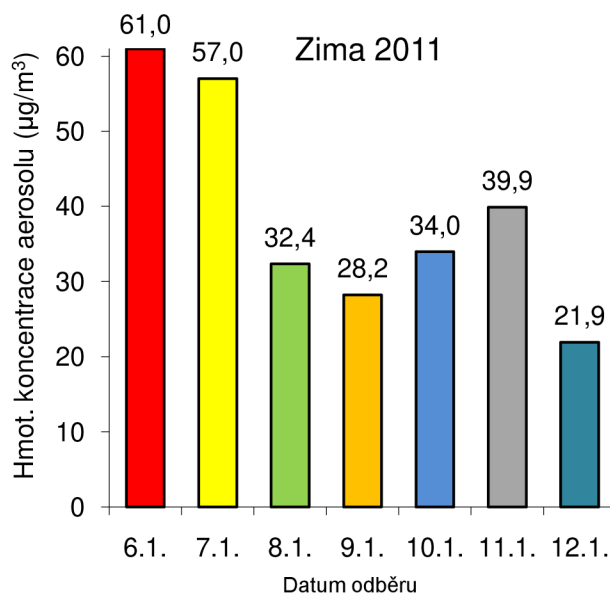
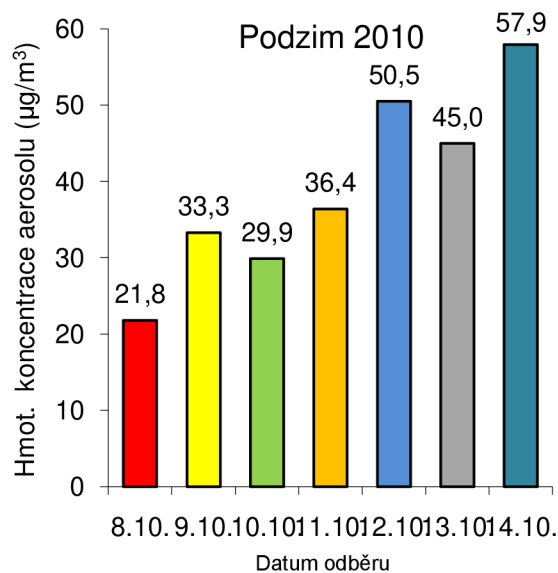
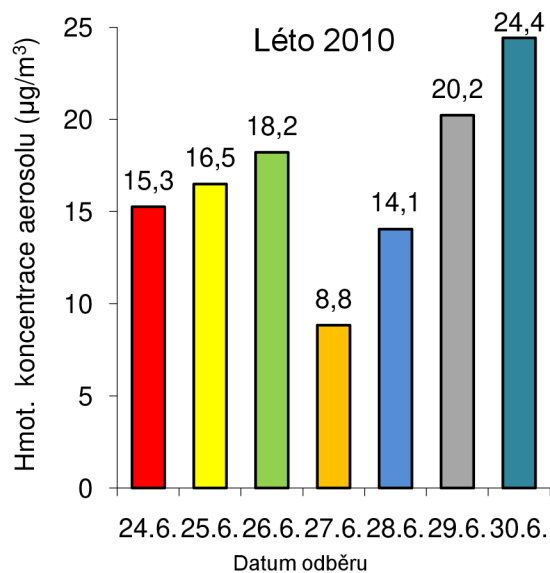
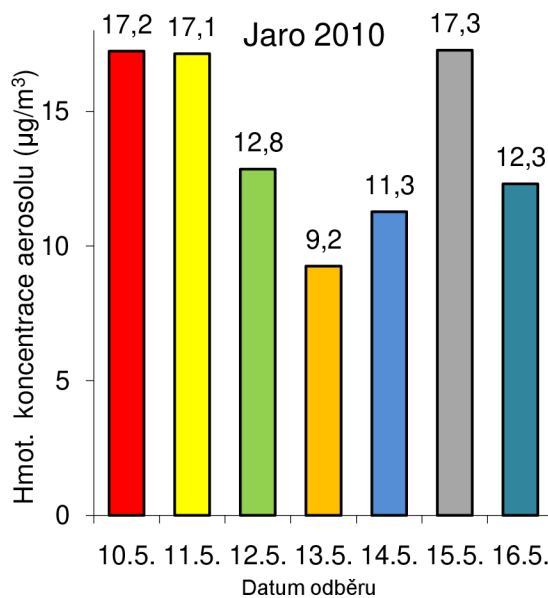
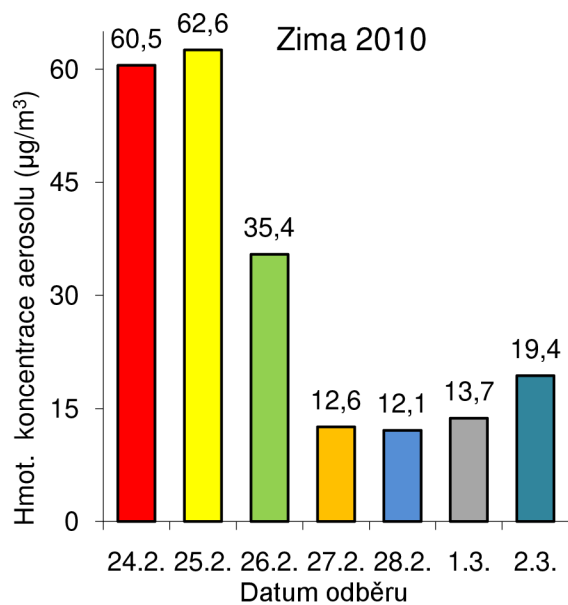
V následujících tabulkách jsou uvedeny podmínky při odběru reálných vzorků (**tabulka č. 5.18**) a naměřené koncentrace analyzovaných sloučenin (**tabulka č. 5.19 - 5.24**). Změny koncentrací analyzovaných sloučenin během ročních období je znázorněna v **grafech č. 5.19 - 5.33**).

5.2.1 Charakterizace odběru reálných vzorků

Tabulka č. 5.18: Podmínky odběru reálných vzorků

Roční období	Datum odběru	Rychlost větru (m/s) [66]	Množství srážek (mm) [66]*	PM _{2,5} (µg/m ³)	Ø Teplota vzduchu (°C)	Tlak vzduchu (hPa) [66]
Zima 2010	24.2.	1,0	-	60,5	4,1	974,7
	25.2.	1,3	-	62,6	4,7	976,2
	26.2.	2,0	3,9	35,4	6,0	969,7
	27.2.	1,7	-	12,6	6,1	978,9
	28.2.	4,0	8,7	12,1	7,0	970,7
	1.3.	3,7	-	13,7	7,3	979,2
	2.3.	1,3	0,0	19,4	4,4	988,9
Jaro 2010	10.5.	1,0	1,5	17,2	17,3	977,4
	11.5.	2,3	0,0	17,1	16,4	978,4
	12.5.	2,0	0,5	12,9	15,0	977,6
	13.5.	1,7	1,1	9,2	11,8	977,3
	14.5.	1,3	2,6	11,3	10,9	977,5
	15.5.	2,3	0,2	17,3	9,2	976,3
	16.5.	1,0	3,8	12,3	10,3	977,0
Léto 2010	24.6.	1,0	-	15,3	20,0	986,7
	25.6.	1,7	-	16,5	19,7	984,3
	26.6.	2,0	-	18,2	22,0	986,2
	27.6.	1,7	-	8,84	21,1	990,0
	28.6.	2,0	-	14,1	23,5	989,9
	29.6.	1,3	-	20,2	24,2	988,7
	30.6.	1,3	-	24,4	25,9	988,5
Podzim 2010	8.10.	2,0	-	21,8	9,5	988,4
	9.10.	1,7	-	33,3	9,5	994,1
	10.10.	1,7	-	29,9	9,1	987,1
	11.10.	1,7	-	36,4	8,3	986,8
	12.10.	1,7	-	50,5	8,4	987,0
	13.10.	0,0	-	45,0	6,0	987,2
	14.10.	1,3	0,0	57,9	7,8	983,6
Zima 2011	6.1.	3,7	0,1	61,0	-0,1	985,1
	7.1.	2,3	-	57,0	3,5	987,4
	8.1.	0,7	1,6	32,4	3,3	987,4
	9.1.	0,3	0,0	28,2	4,1	986,7
	10.1.	1,7	0,6	34,0	3,8	991,8
	11.1.	2,7	0,3	39,9	4,6	984,3
	12.1.	1,7	2,2	21,9	4,9	987,7

*: „0,0“ neměřitelný úhrn srážek; „-“, beze srážek

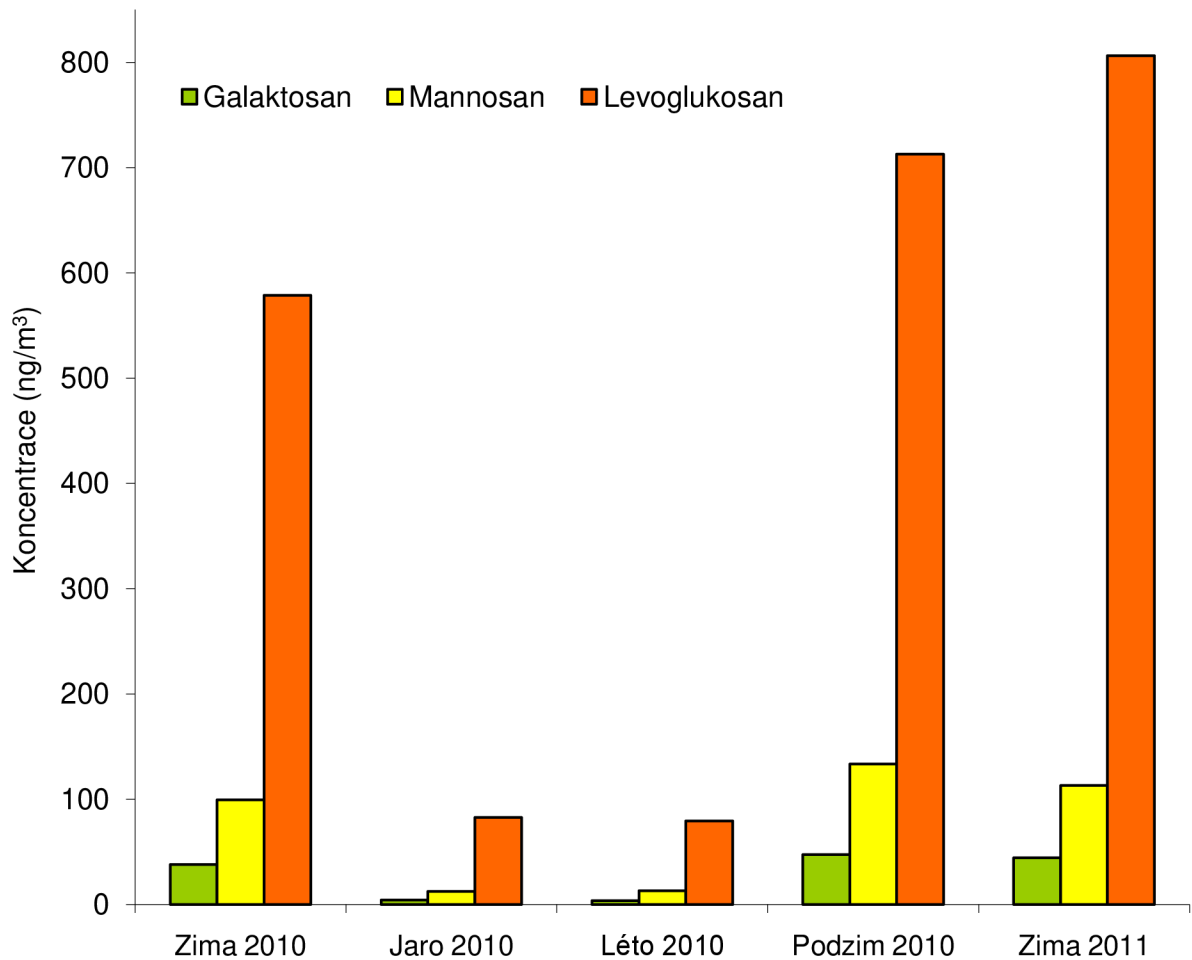


Grafy č. 5.19-5.23: Množství odebraného aerosolu frakce PM_{2,5} pro jednotlivá období a dny

5.2.2 Koncentrace analyzovaných sloučenin v aerosolu

Tabulka č. 5.19: Koncentrace anhydridů monosacharidů v aerosolu PM_{2,5} (ng/m³)

Roční období	Datum odběru	Galaktosan	Mannosan	Levoglukosan
Zima 2010	24.2.	84,7	145	962
	25.2.	87,5	297	1340
	26.2.	31,7	62,5	521
	27.2.	17,4	54,9	336
	28.2.	10,9	31,7	280
	1.3.	10,3	33,4	246
	2.3.	22,1	69,0	366
Jaro 2010	10.5.	2,90	11,4	86,0
	11.5.	5,50	12,6	90,8
	12.5.	5,70	17,3	105
	13.5.	4,90	15,4	97,0
	14.5.	5,50	15,7	93,1
	15.5.	2,30	6,2	39,8
	16.5.	2,40	8,2	67,0
Léto 2010	24.6.	4,80	15,2	97,2
	25.6.	6,50	22,2	131
	26.6.	5,70	22,3	135
	27.6.	0,40	1,70	22,5
	28.6.	1,90	6,50	49,7
	29.6.	2,60	8,40	56,1
	30.6.	3,20	15,0	63,7
Podzim 2010	8.10.	30,8	101	624
	9.10.	35,2	99,3	603
	10.10.	31,7	108	573
	11.10.	48,1	172	807
	12.10.	60,7	187	920
	13.10.	48,9	102	586
	14.10.	76,1	164	878
Zima 2011	6.1.	51,3	104	1030
	7.1.	59,4	139	1070
	8.1.	50,2	139	993
	9.1.	65,7	208	1120
	10.1.	30,2	76,2	492
	11.1.	30,8	74,8	656
	12.1.	23,3	49,6	290



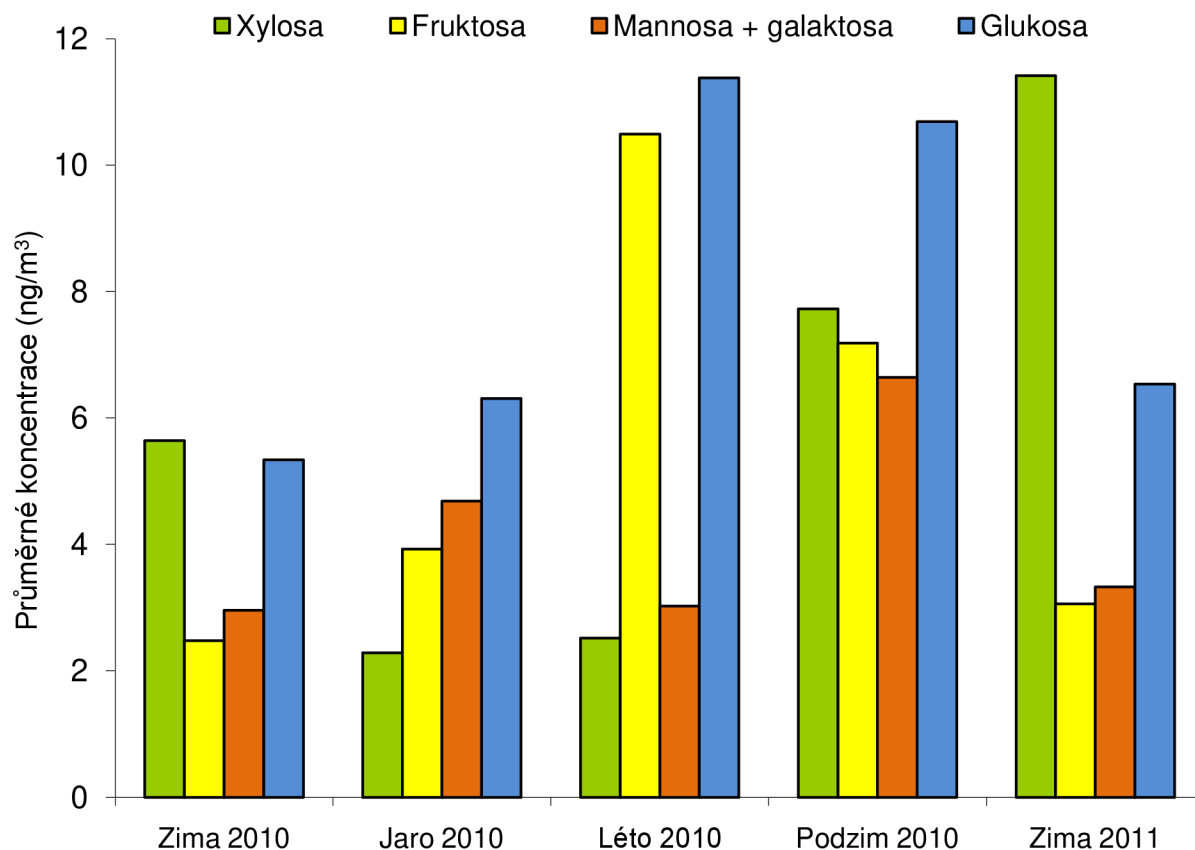
Graf č. 5.24: Průměrné hodnoty koncentrace anhydridů monosacharidů v aerosolu $PM_{2,5}$

Nejvyšší koncentrace anhydridů monosacharidů jsou zaznamenány v období zimních měsíců a na podzim, kdy je množství spalovaného dřeva v důsledku vytápění domácností nejvyšší. Levoglukosan je užíván jako hlavní marker spalování dřeva, jelikož jeho množství uvolněné do ovzduší je nejvyšší a i přes jeho degradaci oxidací OH radikály v letních měsících jeho stabilita v ovzduší je poměrně vysoká. Minoritními markery jsou pak mannosan a galaktosan. Zatímco levoglukosan se do ovzduší uvolňuje při spalování celulosy, galaktosan a mannosan jsou do ovzduší uvolňovány při spalování hemicelulosy, jejíž obsah ve dřevě je nižší. Kolísání koncentrací anhydridů monosacharidů v průběhu jednotlivých dní odběru lze přičíst rozdílným zdrojům, meteorologickým a rozptylovým podmínkám.

Tabulka č. 5.20: Koncentrace monosacharidů v aerosolu PM_{2,5} (ng/m³)

Roční období	Datum odběru	Xylosa	Fruktosa	Glukosa	Mannosa + galaktosa
Zima 2010	24.2.	8,82	2,87	6,77	3,06 *
	25.2.	11,3	3,59	9,31	3,48 *
	26.2.	5,55	2,54	5,28	2,74 *
	27.2.	4,35	2,67	4,20	2,79 *
	28.2.	4,18	1,96	4,14	2,93 *
	1.3.	2,44	1,72	3,55	2,84 *
	2.3.	2,86	1,98	4,11	2,85 *
Jaro 2010	10.5.	1,96	4,40	11,4	5,16
	11.5.	2,41	4,57	7,61	5,07
	12.5.	2,21	2,87	3,31	5,26
	13.5.	2,60	1,41	6,32	4,80
	14.5.	2,66	2,93	2,70	4,82
	15.5.	1,94	6,73	7,35	3,11
	16.5.	2,21	4,56	5,50	4,58
Léto 2010	24.6.	2,71	5,18	7,09	3,10 *
	25.6.	3,17	8,33	8,90	2,92 *
	26.6.	3,06	17,2	16,2	3,08 *
	27.6.	1,67	8,35	7,42	2,68 *
	28.6.	2,41	8,39	10,9	3,18 *
	29.6.	2,32	12,0	13,3	3,17 *
	30.6.	2,27	13,9	15,9	3,02 *
Podzim 2010	8.10.	5,72	5,17	8,45	5,68
	9.10.	6,59	6,24	14,1	6,58
	10.10.	5,11	4,58	8,58	6,09
	11.10.	6,94	6,35	11,9	6,48
	12.10.	9,16	8,23	14,7	7,40
	13.10.	8,67	7,68	7,66	6,85
	14.10.	11,9	12,1	9,41	7,43
Zima 2011	6.1.	13,6	3,09	7,40	3,68 *
	7.1.	13,3	4,08	7,91	3,59 *
	8.1.	13,4	3,49	6,73	3,25 *
	9.1.	18,5	2,25	6,33	3,28 *
	10.1.	6,63	3,50	6,46	3,20 *
	11.1.	9,51	3,05	6,15	3,27 *
	12.1.	4,95	1,96	4,78	3,02 *

* koncentrace galaktosy (součet anomerů α a β).



Graf č. 5.25: Průměrné hodnoty koncentrace monosacharidů v aerosolu PM_{2,5}

Zvýšené koncentrace xylosy v zimních měsících a na podzim jsou způsobeny spalováním dřeva. Xylosa je součástí polymerového řetězce hemicelulosity a do ovzduší se dostává při jejím spalování.

Glukosa dosahuje maximálních hodnot koncentrací v letních měsících, jelikož v rostlinném těle vzniká jako jeden z hlavních produktů fotosyntézy a představuje pro rostliny zásobu energie. Rovněž v zimním období nejsou koncentrace glukosy zanedbatelné. Jejím zdrojem v zimních měsících je naopak spalování dřeva, jelikož je součástí polymerového řetězce celulosity.

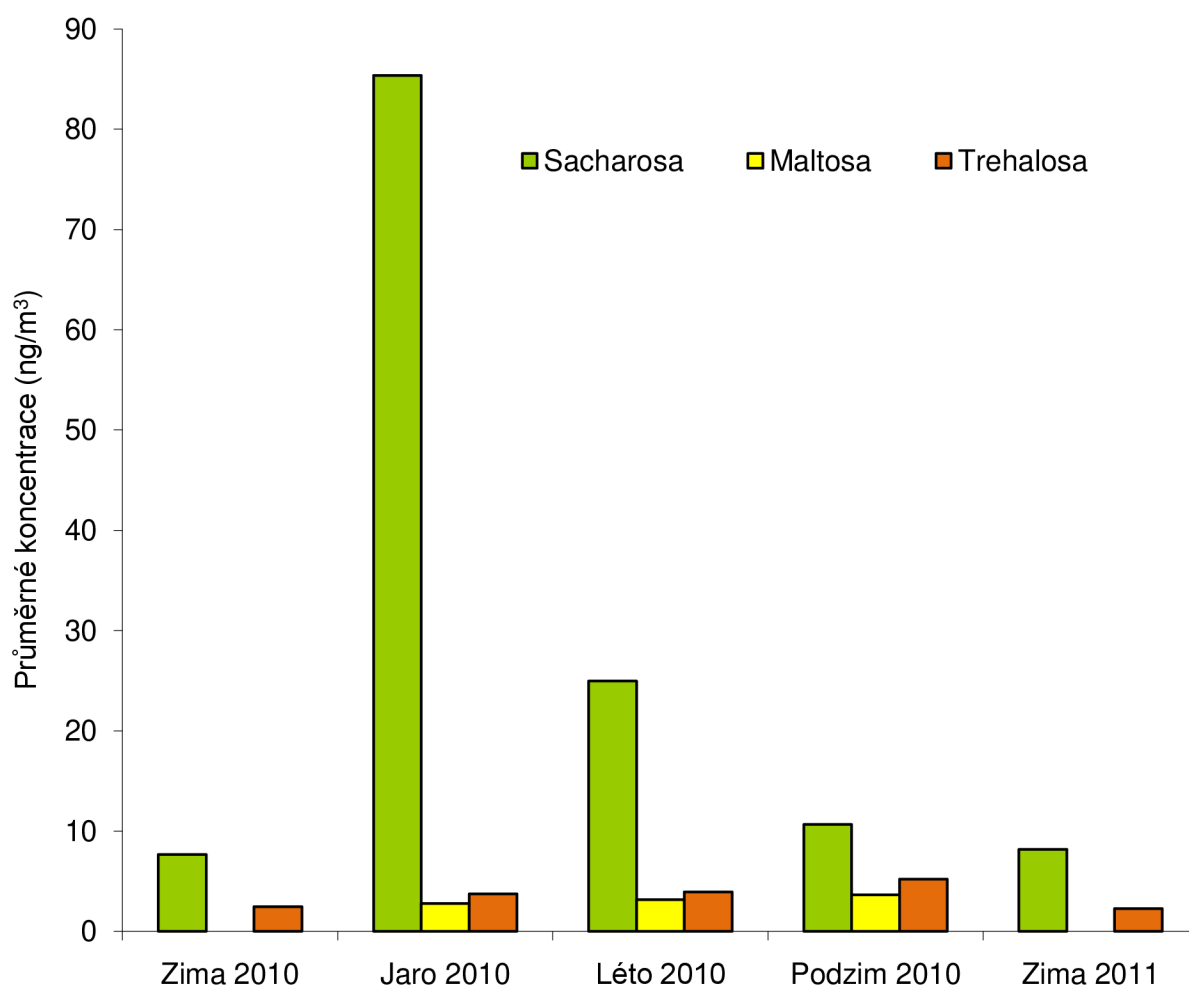
Fruktosa se v největší míře v ovzduší nachází v období léta, je součástí květů a plodů rostlin, rovněž se vyskytuje v rostlinných šťávách a medu.

Zvýšené koncentrace galaktosy a mannosy v období zimních měsíců a podzimu jsou způsobeny spalováním biomasy, jelikož jsou součástí hemicelulosového řetězce. Galaktosa je významnou složkou mléčného cukru laktosy a součástí rostlinných polysacharidů (agar). V chromatogramu reálného vzorku nebyl pik β - mannosy a β - galaktosy v čase 17,779 minut rozseparován. Vzhledem ke skutečnosti, že v daném období nebyla detekována α - mannosy, lze předpokládat, že se v aerosolu nenacházela ani β - mannosy. Proto hodnoty v **tabulce č. 5.20**, uvedené pod symbolem „^{**}“ náležejí pravděpodobně pouze galaktose.

Koncentrace lyxosy a arabinosy ve vzorcích aerosolu se nacházely pod limitem detekce ve všech sezónách.

Tabulka č. 5.21: Koncentrace disacharidů v aerosolu PM_{2,5} (ng/m³)

Roční období	Datum odběru	Sacharosa	Maltosa	Trehalosa
Zima 2010	24.2.	6,41	ND	2,24
	26.2.	5,38	ND	1,95
	27.2.	7,81	ND	2,71
	28.2.	15,6	ND	2,67
	1.3.	5,68	ND	2,72
	2.3.	7,02	ND	2,65
Jaro 2010	10.5.	136	2,88	3,89
	11.5.	30,4	2,72	3,56
	12.5.	37,5	2,87	3,97
	13.5.	5,17	2,71	3,10
	14.5.	125	2,75	4,00
	15.5.	161	2,57	3,92
	16.5.	103	2,90	3,83
Léto 2010	24.6.	6,30	2,97	3,23
	25.6.	11,2	2,96	3,45
	26.6.	57,5	4,95	3,52
	27.6.	9,79	2,57	3,44
	28.6.	25,7	2,94	4,03
	29.6.	30,3	2,78	4,47
	30.6.	33,9	2,96	5,31
Podzim 2010	8.10.	11,1	5,67	5,82
	9.10.	9,6	3,25	5,94
	10.10.	8,97	3,13	5,10
	11.10.	11,8	3,38	5,68
	12.10.	13,3	3,47	4,11
	13.10.	8,19	3,39	4,20
	14.10.	11,7	3,20	5,58
Zima 2011	6.1.	18,6	ND	2,22
	7.1.	12,9	ND	2,19
	8.1.	5,01	ND	2,05
	9.1.	4,03	ND	2,04
	10.1.	6,04	ND	2,53
	11.1.	6,54	ND	2,25
	12.1.	4,13	ND	2,65



Graf č. 5.26: Průměrné hodnoty koncentrace disacharidů v aerosolu $PM_{2,5}$

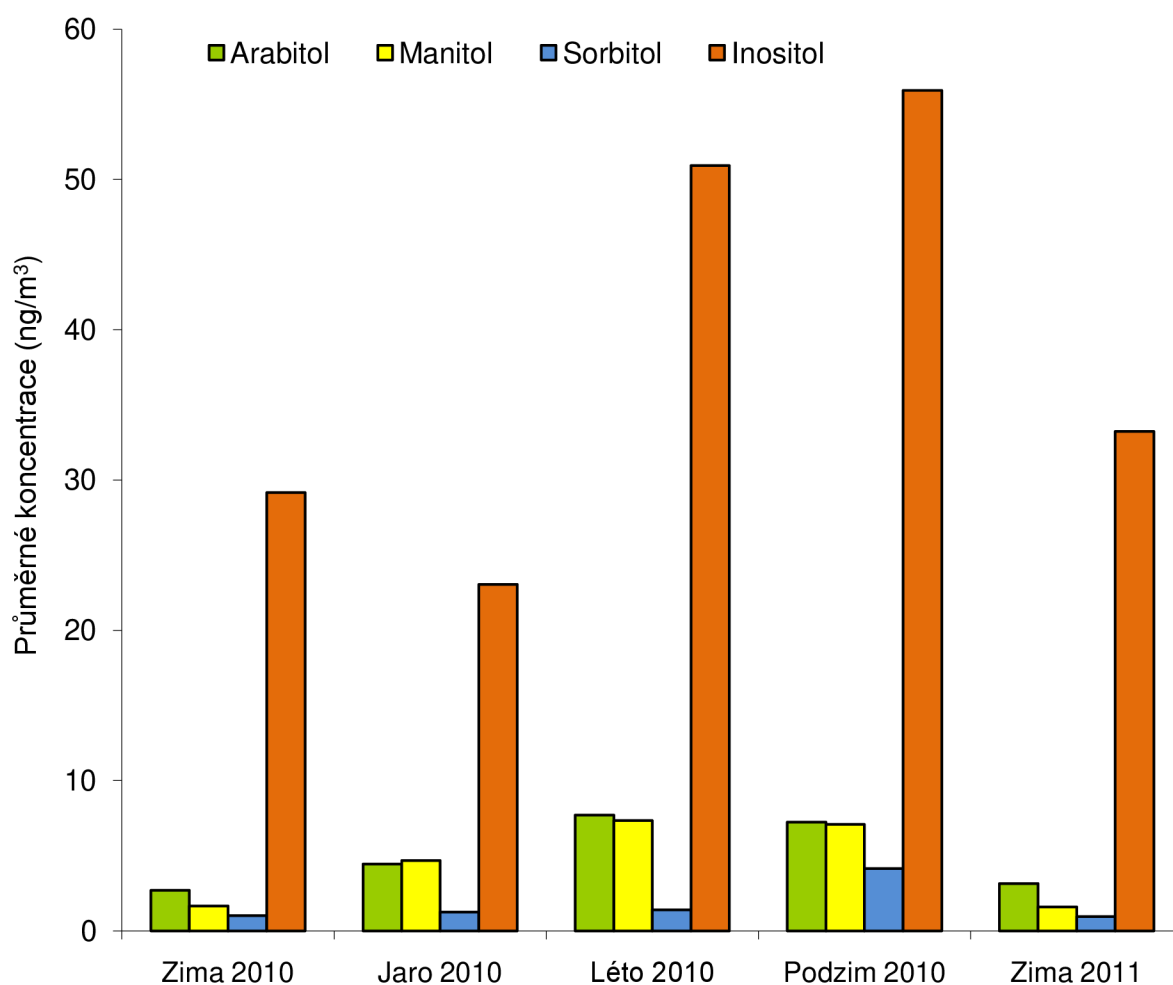
Nejvyšší koncentrace sacharosy v aerosolu $PM_{2,5}$ byly zaznamenány na jaře. Příčinou je období květenství a s tím spojená produkce pylu, který je uvolňován do ovzduší. Jedná se o disacharid, tvořený molekulou D-glukosy a D-fruktosy. Je metabolickým produktem všech zelených rostlin. V jejich tělech se nachází ve stoncích, listech nebo plodech. Zdrojem sacharosy v zimních měsících je spalování biomasy.

D-maltosa se do ovzduší dostává převážně v období od jara až do podzimu. Jejím zdrojem jsou obiloviny, zejména ječmen, který je v České republice po pšenici druhou nejrozšířenější obilovinou. V zimních měsících se koncentrace maltosy ve vzorcích nacházely pod limitem detekce.

Trehalosa byla v aerosolu detekována ve všech ročních obdobích. Nejvyšší koncentrace trehalosy byly zaznamenány v období podzimu. Jejím zdrojem jsou mikroorganismy, jejichž metabolickými pochody trehalosa vzniká. Nejvyšší koncentrace na podzim tak lze vysvětlit zvýšenou činností mikroorganismů v období opadu listů, kdy je půda zásobována velkým množstvím organických látek.

Tabulka č. 5.22: Koncentrace alditolů v aerosolu PM_{2,5} (ng/m³)

Roční období	Datum odběru	Arabitol	Manitol	Sorbitol	Inositol
Zima 2010	24.2.	2,86	1,61	1,49	43,2
	25.2.	4,39	1,64	1,36	48,9
	26.2.	2,17	1,18	0,91	32,3
	27.2.	2,75	1,76	1,19	29,8
	28.2.	2,11	1,96	0,81	18,9
	1.3.	2,59	1,99	0,67	15,8
	2.3.	2,05	1,48	0,76	15,3
Jaro 2010	10.5.	4,32	5,45	1,20	27,0
	11.5.	4,56	5,07	1,69	27,7
	12.5.	3,40	3,95	1,26	19,3
	13.5.	2,28	2,34	0,88	12,4
	14.5.	4,59	5,03	1,21	24,2
	15.5.	5,84	5,85	0,97	28,9
	16.5.	6,15	5,07	1,61	21,8
Léto 2010	24.6.	3,85	4,64	1,65	33,6
	25.6.	5,26	4,63	1,10	46,3
	26.6.	6,50	5,76	1,76	57,6
	27.6.	6,30	5,97	0,61	62,2
	28.6.	8,87	8,87	1,43	44,3
	29.6.	10,9	10,3	1,67	48,7
	30.6.	12,3	11,3	1,61	63,7
Podzim 2010	8.10.	4,69	4,93	2,04	39,0
	9.10.	6,92	8,29	2,71	40,9
	10.10.	5,79	6,32	1,75	28,5
	11.10.	6,24	6,76	2,38	41,8
	12.10.	7,40	6,06	3,91	66,2
	13.10.	6,07	5,65	7,18	65,6
	14.10.	13,5	11,7	9,06	110
Zima 2011	6.1.	3,12	1,20	1,04	32,8
	7.1.	3,43	1,40	1,32	43,8
	8.1.	3,57	2,18	1,02	36,3
	9.1.	3,57	1,41	0,81	30,6
	10.1.	3,01	2,00	0,96	27,3
	11.1.	2,95	1,36	0,94	31,6
	12.1.	2,38	1,63	0,67	30,3



Graf č. 5.27: Průměrné hodnoty koncentrace alditolů v aerosolu PM_{2,5}

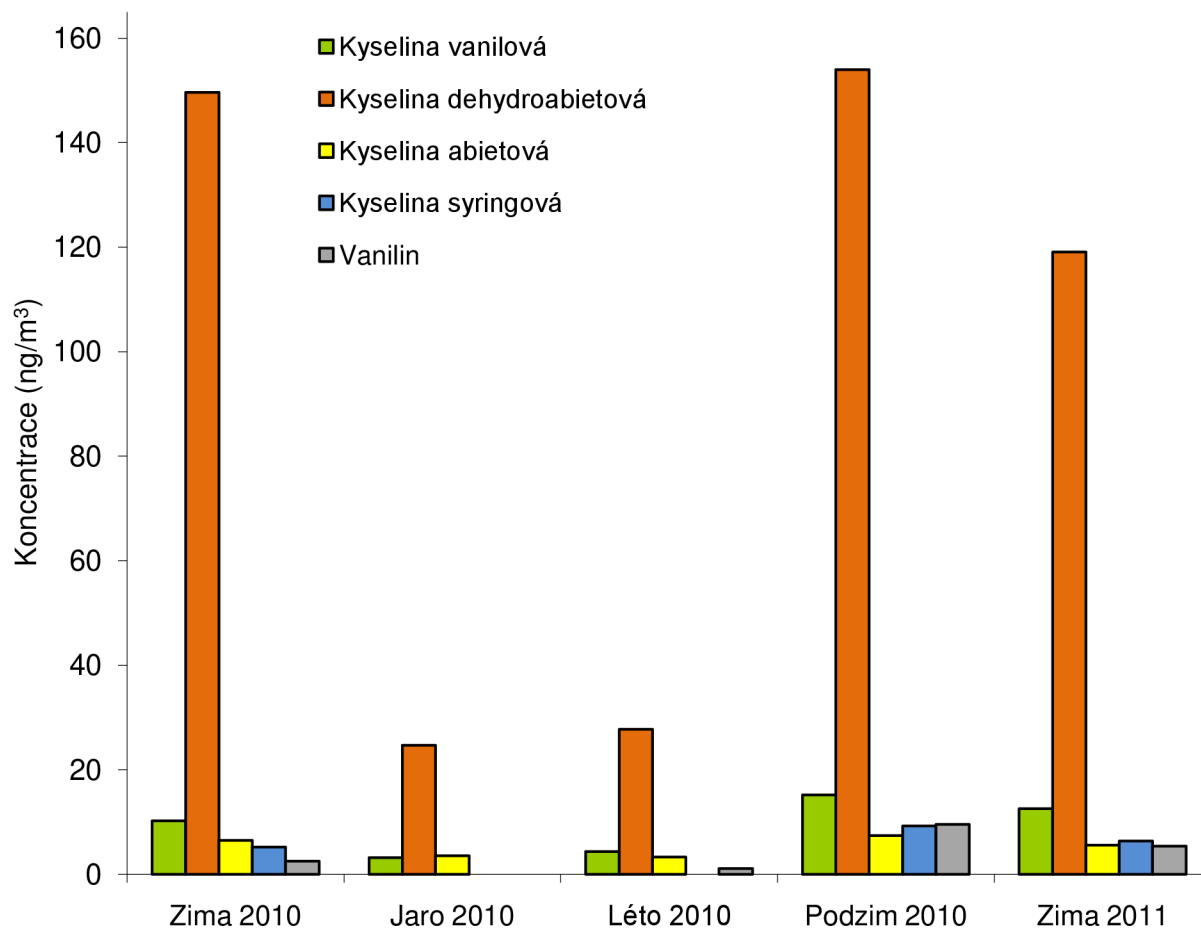
Alditoly se v nejvyšších koncentracích v ovzduší nacházejí na podzim a v období letních měsíců.

Hlavním zdrojem myo-inositolu jsou mikroorganismy, jejichž biochemickými pochody vzniká. Nejvyšších koncentrací dosahuje stejně jako ostatní alditoly v období podzimu, kdy je zvýšená činnost mikroorganismů v půdě, v důsledku opadu listů a tím zvýšeného množství organických látek v půdě. Myo-inositol se nachází rovněž i v rostlinách, ve formě kyseliny fytové a je klíčovou látkou v metabolismu rostlin i mikroorganismů. Jelikož lze definovat dva základní zdroje myo-inositolu, jsou jeho koncentrace v aerosolu nejvyšší.

Manitol a arabitol jsou zásobními látkami v tělech hub. Jejich nejvyšší koncentrace jsou tak zaznamenány v období léta a podzimu. Významným zdrojem manitolu je rovněž spalování biomasy [67]. Nejnižší koncentrace látek ze skupiny alditolů byly naměřeny u sorbitolu. Maximální koncentrace dosahuje sorbitol na podzim. Jeho zdrojem jsou rovněž biochemické pochody mikroorganismů.

Tabulka č. 5.23: Koncentrace markerů spalování dřeva v aerosolu PM_{2,5} (ng/m³)

Roční období	Datum odběru	Vanilin	Kyselina Vanilová	Kyselina syringová	Kyselina dehydro-abietová	Kyselina abietová
Zima 2010	24.2.	ND	13,2	8,3	284	7,15
	25.2.	ND	25,1	13,2	238	7,25
	26.2.	ND	7,40	4,8	106	4,26
	27.2.	6,56	7,59	5,2	119	5,99
	28.2.	2,02	5,77	ND	53,3	4,49
	1.3.	6,67	5,08	ND	92,6	7,95
	2.3.	2,17	7,51	5,0	155	8,23
Jaro 2010	10.5.	ND	3,25	ND	15,2	3,61
	11.5.	ND	3,12	ND	21,5	3,29
	12.5.	ND	3,28	ND	26,5	3,49
	13.5.	ND	3,12	ND	29,5	3,40
	14.5.	ND	2,98	ND	28,9	3,42
	15.5.	ND	ND	ND	27,8	3,76
	16.5.	ND	3,22	ND	23,2	3,86
Léto 2010	24.6.	2,82	5,86	ND	50,5	3,70
	25.6.	1,61	4,65	ND	35,7	3,33
	26.6.	1,19	5,15	ND	36,4	3,32
	27.6.	ND	3,17	ND	13,3	3,12
	28.6.	1,49	3,78	ND	15,3	3,12
	29.6.	0,69	3,80	ND	17,2	3,14
	30.6.	ND	4,07	ND	25,7	3,23
Podzim 2010	8.10.	7,36	11,0	8,3	132	6,53
	9.10.	9,68	10,2	7,2	107	5,94
	10.10.	11,6	11,8	6,7	126	7,08
	11.10.	18,3	18,9	10,4	194	8,97
	12.10.	9,71	20,3	13,0	193	7,40
	13.10.	7,61	10,9	6,8	159	7,80
	14.10.	2,71	22,9	12,3	167	8,16
Zima 2011	6.1.	ND	15,6	8,6	63,2	4,08
	7.1.	ND	17,9	9,1	115	5,29
	8.1.	7,37	15,3	7,3	131	4,66
	9.1.	12,5	18,2	9,6	213	7,71
	10.1.	8,16	8,36	5,0	118	6,35
	11.1.	6,59	8,53	5,2	82,6	4,74
	12.1.	3,33	4,07	ND	111	5,96



Graf č. 5.28: Průměrné hodnoty koncentrace markerů spalování dřeva v aerosolu PM_{2,5}

U markerů spalování dřeva je předpokládán jejich celoroční výskyt v ovzduší. Stejně jako anhydridy sacharidů dosahují tyto látky maximálních koncentrací v období zimních měsíců, kdy je spalováno největší množství dřeva z důvodu vytápění domácností.

Nejvyšší koncentrace ze skupiny markerů spalování dřeva byly zaznamenány pro kyselinu dehydroabietovou, která je významným markerem spalování měkkého dřeva. Maximální koncentrace kyseliny dehydroabietové byly naměřeny v období zimních měsíců a na podzim, stejně jako u ostatních markerů spalování dřeva. Jejím zdrojem je spalování pryskyřice a rovněž vzniká oxidací kyseliny abietové ve vzduchu.

Koncentrace kyseliny abietové jsou ve všech ročních obdobích výrazně nižší, než koncentrace kyseliny dehydroabietové. Část kyseliny abietové v ovzduší podléhá oxidaci za vzniku kyseliny dehydroabietové.

Vanilín se do ovzduší dostává tepelným rozkladem ligninu, při spalování měkkého i tvrdého dřeva. V období jara se jeho koncentrace nacházela pod limitem detekce.

Kyselina vanilová a syringová se v rostlinných tělech nacházejí ve formě polymerů, jsou součástí buněčných stěn. Do ovzduší jsou emitovány při spalování měkkého dřeva. Koncentrace kyseliny syringové se na jaře a v létě nacházela pod limitem detekce.

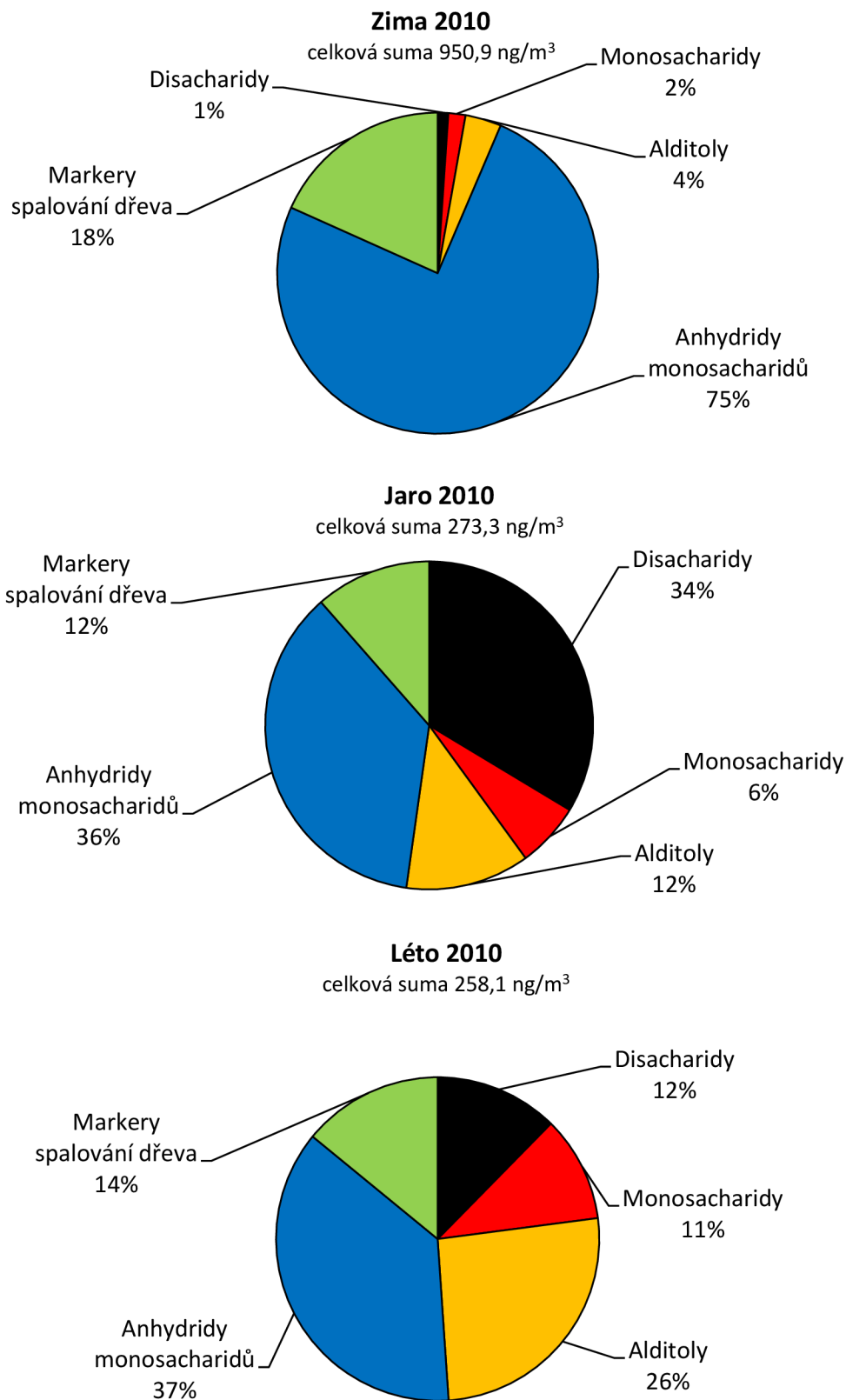
Hodnota koncentrace syringolu se nacházela pod limitem detekce ve všech ročních obdobích.

Následkem rozdílných zdrojů jednotlivých analyzovaných sloučenin se v průběhu roku mění relativní příspěvek analyzovaných sloučenin k celkové koncentraci aerosolů ve frakci PM_{2,5}, viz tabulka 5.24.

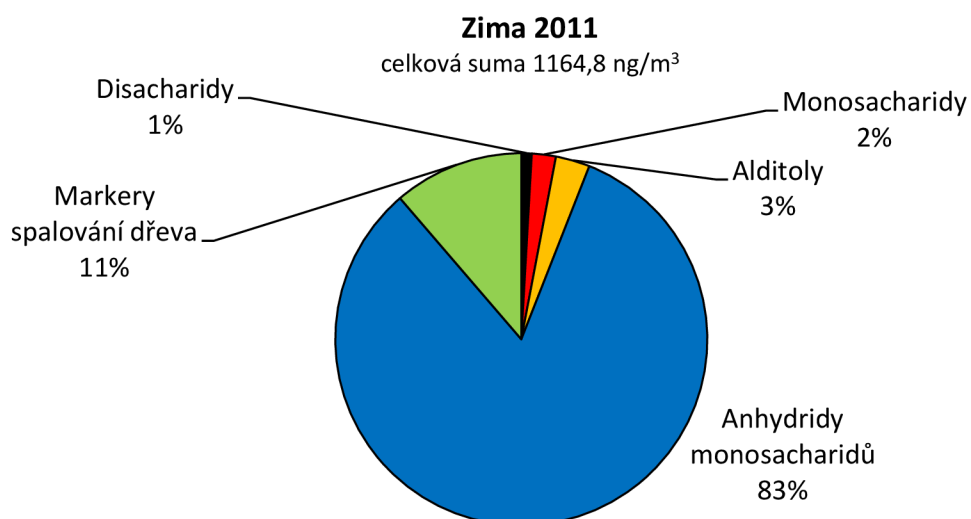
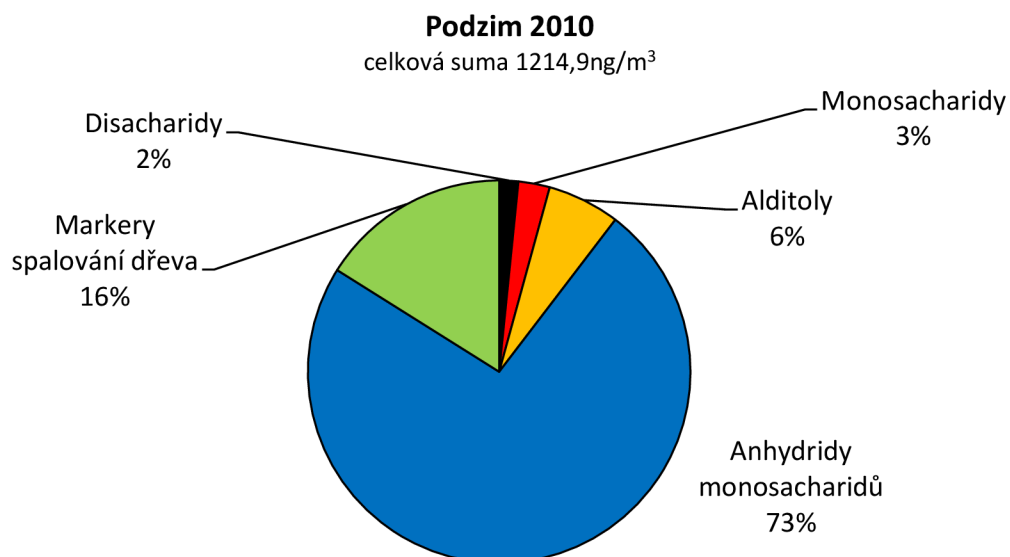
Tabulka č. 5.24: Relativní zastoupení látek v aerosolu PM_{2,5} (%)

Roční období	Ø hodnota PM _{2,5} (ng/m ³)	Analyzované sloučeniny	Ø množství v aerosolu (ng/m ³)	Relativní zastoupení v aerosolu (%)
Zima 2010	30900	Monosacharidy	16,4	0,05
		Disacharidy	10,1	0,03
		Alditoly	34,6	0,11
		Anhydridy sacharidů	716	2,31
		Markery spalování dřeva	174	0,56
Jaro 2010	13900	Monosacharidy	17,4	0,13
		Disacharidy	91,9	0,66
		Alditoly	33,4	0,24
		Anhydridy sacharidů	99,2	0,71
		Markery spalování dřeva	31,3	0,23
Léto 2010	17000	Monosacharidy	27,4	0,16
		Disacharidy	32,0	0,19
		Alditoly	67,4	0,40
		Anhydridy sacharidů	95,9	0,56
		Markery spalování dřeva	36,5	0,22
Podzim 2010	39000	Monosacharidy	32,2	0,08
		Disacharidy	19,5	0,05
		Alditoly	74,4	0,19
		Anhydridy sacharidů	893,3	2,29
		Markery spalování dřeva	195,4	0,50
Zima 2011	39000	Monosacharidy	24,3	0,06
		Disacharidy	10,5	0,03
		Alditoly	34,6	0,09
		Anhydridy sacharidů	963,7	2,47
		Markery spalování dřeva	131,7	0,34

Relativní zastoupení jednotlivých skupin analyzovaných sloučenin v jejich celkové sumě je uvedeno v **grafech č. 5.29 – 5.33**.



Grafy č. 5.29-5.31: Relativní zastoupení jednotlivých skupin analyzovaných sloučenin v jejich celkové sumě



Grafy č. 5.32-5.33: Relativní zastoupení jednotlivých skupin analyzovaných sloučenin v jejich celkové sumě

5.2.3 Srovnání naměřených hodnot s literaturou

Naměřené hodnoty koncentrací byly srovnány s hodnotami koncentrací dostupných v literatuře.

Tabulka č. 5.25: Srovnání naměřených koncentrací (ng/m^3) stanovovaných sloučenin s literaturou (data pro frakci aerosolu $\text{PM}_{2,5}$).

Sloučenina	Jaro	Léto	Podzim	Zima ^c	Zdroj
Levoglukosan		79,3 ^a ; 47,1 ^b		693 ^a ; 572 ^b	62
Mannosan		13,0 ^a ; 24,0 ^b		106 ^a ; 105 ^b	62
Galaktosan		3,58 ^a ; 18,9 ^b		38,9 ^a ; 48,7 ^b	62
K. dehydroab.				134 ^a ; 364 ^b	58
K. abietová				6,01 ^a ; 30,3 ^b	58
Vanilin				6,15 ^a ; 17,1 ^b	58
Glukosa		~8,05 ^a ; ~10,2 ^b			20
Arabitol		~5,05 ^a ; ~3,10 ^b			20
Manitol		~4,49 ^a ; ~3,80 ^b			20
Sorbitol		~1,76 ^a ; ~0,60 ^b			20
Trehalosa		~3,52 ^a ; ~0,90 ^b			21
Fruktosa	3,92 ^a ; 5,30 ^b	10,5 ^a ; 2,70 ^b	7,19 ^a ; 1,40 ^b		21
Mannosa	*4,68 ^a ; 0,90 ^b	nd ^a ; 3,90 ^b	*6,64 ^a ; 3,80 ^b		21
Galaktosa	1,70 ^b	3,02 ^a ; 5,70 ^b	4,70 ^b		21
Maltosa	2,77 ^a ; 4,70 ^b	3,16 ^a ; nd ^b	3,64 ^a ; 5,30 ^b		21

* – hodnoty koncentrace sumy mannosy a galaktosy

a – naměřené hodnoty koncentrace v rámci této diplomové práce

b – hodnoty koncentrací uvedených v literatuře

c – průměrné naměřené koncentrace za zimu 2010 a 2011 v rámci této diplomové práce

Hodnoty koncentrací vybraných analyzovaných sloučenin z velké části řádově odpovídají hodnotám koncentrací těchto sloučenin uvedených v literatuře.

6 ZÁVĚR

V diplomové práci byla optimalizována metoda společné analýzy sacharidů a markerů spalování dřeva a biomasy v atmosférických aerosolech. Metoda analýzy byla optimalizována na standardech analyzovaných sloučenin i na reálných vzorcích aerosolu frakce $PM_{2,5}$. V rámci optimalizace metody analýzy bylo vybráno nejvhodnější rozpouštědlo pro společnou extrakci sloučenin z exponovaných filtrů, a to směs MeOH:DCM 1:1 (v/v). Optimalizovány byly rovněž podmínky derivatizace analyzovaných sloučenin. Pro derivatizaci byla vybrána derivatizační směs MSTFA + 1% TMCS, v poměru 2:1 (v/v) s pyridinem. Derivatizace byla prováděna po čas 180 minut a teploty 70 °C. Optimalizovaná metoda byla poté použita pro analýzu studovaných sloučenin v reálných vzorcích aerosolu velikostní frakce $PM_{2,5}$. Aerosoly byly odebírány v jednotlivých ročních obdobích roku 2010 a v zimě 2011 pomocí HV vzorkovače Digitel na křemenné filtry. Odebírány byly 24 hod. vzorky aerosolu po dobu sedmi dní v každé sezóně.

Koncentrace analyzovaných sloučenin v aerosolu frakce $PM_{2,5}$ byly porovnány během všech ročních období. Anhydridy monosacharidů nabývaly nejvyšších koncentrací na podzim a v období zimních měsíců, což odpovídá zvýšenému množství spalovaného dřeva v rámci vytápění domácností. Hlavní marker spalování biomasy, levoglukosan, dosahoval v období zimních měsíců koncentrace až 1340 ng/m³. Suma anhydridů monosacharidů pak tvořila v zimních měsících 2,31 % hmotnostní koncentrace aerosolu frakce $PM_{2,5}$. Stejný trend byl pozorován i u markerů spalování dřeva, uvolňujících se do ovzduší při spalování dřeva. Maximální koncentrace byly naměřeny v průběhu zimních měsíců, kdy hlavní marker spalování dřeva, kyselina dehydroabietová, nabývala koncentrace až 284 ng/m³. Suma analyzovaných markerů spalování dřeva tvořila v zimních měsících 0,56 % hmotnostní koncentrace aerosolu frakce $PM_{2,5}$. Monosacharidy a disacharidy byly detekovány v nejvyšších koncentracích v období jara a léta, tedy v období květenství a produkce pylu. Glukosa nabývala nejvyšších koncentrací v letních měsících, až 16 ng/m³. Suma monosacharidů pak v létě tvořila 0,16 % hmotnostní koncentrace aerosolu frakce $PM_{2,5}$. Z analyzovaných disacharidů byly nejvyšší koncentrace naměřeny u sacharosy, a to až 161 ng/m³. Suma disacharidů tvořila v jarních měsících 0,66 % hmotnostní koncentrace aerosolu frakce $PM_{2,5}$. Nejvyšší koncentrace alditolů byly detekovány v letních měsících a na podzim, kdy je půda zásobována velkým množstvím organické hmoty, a je tak zvýšena činnost mikroorganismů, jejichž biochemickými pochody alditoly převážně vznikají. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny pro inositol, až 110 ng/m³. Suma alditolů tvořila na podzim 0,19 % hmotnostní koncentrace aerosolu frakce $PM_{2,5}$.

Kolísání koncentrací analyzovaných sloučenin v průběhu jednotlivých dní odběru lze přičíst rozdílných zdrojům, meteorologickým a rozptylovým podmínkám.

S výjimkou lyxosy, arabinosy a syringolu, jejichž koncentrace ve všech analyzovaných vzorcích se nacházely pod hodnotou limitu detekce, byly v reálných vzorcích atmosférických aerosolů frakce $PM_{2,5}$ úspěšně kvantifikovány všechny ostatní analyzované sloučeniny.

7 SEZNAM ZKRATEK

BSTFA	N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid
DCM	Dichlormethan
EC	Elementární uhlík
ECD	Detektor elektronového záchytu
FID	Plamenově ionizační detektor
FTIR	Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
GC	Plynová chromatografie
HVS	Vysokoobjemový vzorkovač
LC	Kapalinová chromatografie
MAE	Mikrovlánná extrakce
MeOH	Methanol
MS	Hmotnostní spektrometrie
MSTFA	N-methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid
OC	Organický uhlík
PM	Velikostní frakce odebíraného aerosolu
PSE	Tlaková extrakce rozpouštědlem
SPLIT	Nástřik vzorku za použití děliče toku
SPLITLESS	Nástřik vzorku bez děliče toku
TCD	Tepelně vodivostní detektor
TMCS	Trimethylchlorosilan
TC	Celkové množství uhlíku
TOF	Analyzátor doby letu
TSP	Odebraný aerosol bez výběru velikostní frakce
UZV	Ultrazvuková extrakce

8 SEZNAM LITERATURY

- [1] VALLERO, D. *Fundamentals of air pollution*, 4th edition, Duke University, North Carolina, 2008, p. 967. ISBN: 978-0-12-373615-4.
- [2] SEINFELD J., PANDIS S. *Atmospheric Chemistry and Physics. From Air Pollution to Climate Change*; Wiley & Sons, New York, 1998. ISBN: 0-471-17815-2.
- [3] HOLOUBEK, I. *Troposférická chemie*. 1. vyd. MU, Faculty of Science, 2005. p. 160. ISBN 80-210-3656-7
- [4] ALVES, A. Characterisation of solvent extractable organic constituents in atmospheric particulate matter, *A. Brazilian Academy of Science*, pp. 21-82, 2007.
- [5] FINLAYSON-PITTS, PITTS, J. Jr. *Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere. Theory, Experiments, and Applications*; Academic Press: San Diego, 2000. p. 957, ISBN: 9780122570605
- [6] POSCHL, U. Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effects, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, p. 7520 – 7540.
- [7] JACOBSON, M., HANSSON, H., NOONE, K., CHARLSON, R. Organic atmospheric aerosols: Review and state of the science; *Rev. Geophys.* 2000, 38, p. 267-294.
- [8] DOHÁNYOSOVÁ, P., KUBINCOVÁ, L., SMOLÍK, J., SCHWARZ, J., ŽDÍMAL, V. *Výkladový slovník aerosolových termínů*, Laboratoř chemie a fyziky aerosolů, Ústav chemických procesů AV ČR, v.v.i. 2007.
- [9] FERGE, T., MAGUHN, J., HAFNER, K., MÜHLBERGER, F., DAVIDOVIC, M., WARNECKE, R., ZIMMERMANN, R. On-Line Analysis of Gas-Phase Composition in the Combustion Chamber and Particle Emission Characteristics during Combustion of Wood and Waste in a Small Batch Reactor, *Environ. Sci. Technol.*, p. 1393-1341, vol. 39, 2005.
- [10] MILTON, L., LIN, L., DELBERT, J. Review of Recent Advances in Detection of Organic Markers in Fine Particulate Matter and Their Use for Source Apportionment, *J. Air & Waste Manage. Assoc.* 60, p. 3-25, 2010.
- [11] KAHN, Ralph., CHIN, Miam. *Atmospheric Aerosol, Properties and Climate Impacts*. U.S. Climate Change Science Program, 2009, p. 128.
- [12] URL: <<http://www.czechcoal.cz/cs/ur/zprava/2007cz/ur25.html>> [cit. 2010-05-01].
- [13] URL: <http://www.khsova.cz/01_aktuality/files/prezentace_ovzdusi_3.pdf> [cit. 2011-03-11].
- [14] URL: <<http://crac.ucc.ie/tour/Brice1.pdf>> [cit. 2010 – 09-11]
- [15] KUBÁTOVÁ, A., VERMEYLEN, R., CLAYES, M., CAFMEYER, J., MAENHAUT, W. Organic compounds in urban aerosols from Gent, Belgium: Characterization, sources, and seasonal differences, *J. Geophys. Res.*, vol. 107, 2002
- [16] WILLEKE, K., BARON, A. *Aerosol Measurement. Principles, Techniques, and Applications*; Van Nostrand Reinhold, New York, p. 1171, 1992, ISBN: 978-0-471-35636-3.

- [17] GAZDOŠOVÁ, L. Studium chemického složení atmosférických aerosolů, Diplomová práce, pp. 74, 2008.
- [18] JIA, J., CLEMENTS, A., FRASER, M. Saccharide composition in atmospheric particulate matter in the southwest US and estimates of source contributions, *Aerosol Sci. Tech.*, 2010, pp. 62-73.
- [19] PASHYNSKA, V., VERMEYLEN, R., VAS, G., MAENHAUT, W., CLAEYS, M. Development of a gas chromatographic/ion trap massspectrometric method for the determination of levoglucosan and saccharidic compounds in atmospheric aerosols. Application to urban aerosols, *John Wiley & Sons*, 2002, **37**, pp. 1249-1257.
- [20] JIA, J., CLEMENTS, A., FRASER, M. Characterization of saccharides and other organic compounds in fine particles and the use of saccharides to track primary biologically derived carbon sources, *Atmos. Environ.*, 2010, pp. 724-732
- [21] MEDEIROS, P., CONTE, M., WEBER, J., SIMONEIT, B. Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, *Atmos. Environ.*, 2006, 40, pp. 1694-1705.
- [22] MARTINEZ, J. *Ultrasound in chemistry*, 2009, p. 60, ISBN: 978-3-52731934-3.
- [23] DEAN, J. *Extraction techniques in analytical science*, p. 279, 2009, ISBN: 0470772859.
- [24] SCHUMMER, C., DELHOMME, O. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis, *Talanta*, 77, 2009, p. 1473-1482
- [25] URL: <<http://www.leacsa.com/pdf/GC%20Derivatization%20Reagents.pdf>> [cit. 2010-12-05].
- [26] LAITINEN, T., MARTÍN S., PARSHINTSEV, J., HARTONEN, K., RIEKKOLA, M., KULMALA, M., PAVÓN, J.L. Determination of organic compounds from wood combustion aerosol nanoparticles by different gas chromatographic systems and by aerosol mass spectrometry, *J. Chem. Sci.*, 2010, p. 151-159
- [27] MEDEIROS, P., SIMONEIT, B. Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chem. Sci.*, 2007, p. 271-287.
- [28] BARKER, J., *Mass Spectrometry*, 2nd edition, 1999, ISBN:0471-967-629
- [29] MAXIM, L. *Analysis of Carbohydrates by Mass Spectrometry*. Shelby Hall, University of Alabama, Literature seminar, 2007, p. 2-11.
- [30] CASEIRO, A., MARR, I., CLAEYS, M., KASPER-GIEBL, A., PUXBAUM, H., PIO, C. Determination of saccharides in atmospheric aerosol using anion-exchange high-performance liquid chromatography and pulsed-amperometric detection, *J. Chem. Sci.*, 2007, p. 37-45.
- [31] SIMONEIT B.R.T., ELIAS V., KOBAYASHI M., KAWAMURA K., RUSHDI A., MEDEIROS P.M., ROGGE W.F., DIDYK B.M. Sugars - Dominant Water-Soluble Organic Compounds in Soils and Characterization as Tracers in Atmospheric Particulate Matter, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, 38, p. 5939-5949.
- [32] ČOPÍKOVÁ, J. *Chemie a analytika sacharidů*, 1997, ISBN: 80-7080-306-1.

- [33] PACÁK, Josef. *Reakce organických sloučenin*. 1. vyd. Nakladatelství Karolinum, Univerzita Karlova v Praze, 2006. pp. 57-65. ISBN 80-246-1240-2.
- [34] SCALARONE, D., CHIANTORE, O., RIEDO, C. Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of on-line pyrolysis–silylation products of monosaccharides, *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 83, 2008, p. 157–164.
- [35] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*, VŠCHT Praha, 1999, p. 967. ISBN: 80-8665-9011.
- [36] SOFROVÁ, D. *Biochemie*, Univerzita Karlova v Praze, 2005, p. 241. ISBN: 80-7184-0939.
- [37] LINDHORST, K. *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Third Edition, 2007, ISBN: 978-3-527-31528-1.
- [38] ROBYT, J. *Essentials of carbohydrates chemistry*, p. 385, 1997, ISBN:0-387-94951-8
- [39] DEWICK, P. Essentials of Organic Chemistry, for students of Pharmacy, *Med. Ch. Bio. Ch.*, 2006, p. 675, ISBN: 978-0-470-01665-7.
- [40] NUSSBAUMER, T. Combustion and Co-combustion of Biomass: Fundamentals, Technologies, and Primary Measures for Emission Reduction, *Ener. Fuels*, 2003, 17, p. 1510-1521.
- [41] HAWTHORNE, S., MILLER, D., LANGENFELD, J., KRLEGER, M. PM-10 High-Volume Collection and Quantitation of Semi- and Nonvolatile Phenols, Methoxylated Phenols, Alkanes and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Winter Urban Air and Their Relationship to Wood Smoke Emissions. *Envi. Sci. Tech.* 1992, 26, p. 2251-2262.
- [42] BORREGO, C., VALENTE, J. Contribution of residential wood combustion to PM10 levels in Portugal, *Atmos. Environ.*, 44, 2010, p. 642-651.
- [43] SCHAUER J., SIMONEIT B. Measurement of Emissions from Air Pollution Sources. C1-C29 Organic Compounds from Fireplace Combustion of Wood, *California Institute of Technology.*, 2001, p. 1716-1728.
- [44] SIMONEIT, T., CASS, R., ROGGE, W., MAZUREK, M. *Environmental Chemistry Division*, Brookhaven National Laboratory, 1995, p. 1-25.
- [45] EK, M., HENRIKSSON, G. *Wood chemistry and biotechnology*, p. 301 ISBN: 978-3-11-021339-3.
- [46] OROS, D., SIMONEIT, B. Identification and emission factors of molecular tracers in organic aerosols from biomass burning, part 2: Deciduous trees, *Appl. Geochem.*, 2001, 16., p. 1545-1565.
- [47] LAUKO P. *Ekologické aspekty spalování dřeva v průmyslu*, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita Brno, 2002, p. 21.
- [48] ZDRÁHAL, Z., OLIVEIRA, J., VERMELYEN, R., CLAEYS, M., MAENHAUT, W. Improved Method for Quantifying Levoglucosan and Related Monosaccharide Anhydrides in Atmospheric Aerosols and Application to Samples from Urban and Tropical Locations, *Environ. Sci. Technol.*, 2002, 36, p. 747-753.
- [49] JORDAN, T., SEEN, A., JACOBSEN G. Levoglucosan as an atmospheric tracer for woodsmoke, *Atmos. Environ.*, 40, 2006, p. 5316–5321.

- [50] HOFFMANN, D., TOLGNER, A., IINUMA, Y., HERRMANN, H. Atmospheric Stability of Levoglucosan: A Detailed Laboratory and Modeling Study, *Environ. Sci. Tech.*, 2010, p. 696 – 699.
- [51] FABBRI, D., SIMONEIT, B., TORRI, C. Levoglucosan and other cellulose and lignin markers in emissions from burning of Miocene lignites, *Atmos. Environ.*, 43, 2009, p. 2286-2295.
- [52] SCHMIDL, Ch. Chemical characterisation of fine particle emissions from wood stove combustion of common woods growing in mid-European Alpine regions, *Atmos. Environ.*, 2008, 42, p. 126-141.
- [53] DYE, CH., YTRI, K. Determination of monosaccharide anhydrides in atmospheric aerosols by use of high-performance liquid chromatography combined with high-resolution mass spectrometry, *Anal. Chem.* Vol. 77, 2005, p. 1853-1858.
- [54] ENGLING, G., CARICO, CH., KREIDENWEIS, S.M., COLLETT, J.L., DAY, D.E., MALM, W.C., LINCOLN, E., HAO, W.M, HERMANN, H. Determination of levoglucosan in biomass combustion aerosol by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection, *Atmos. Environ.*, 40, 2006, p. 299-311.
- [55] SCHOLNIK, G., FALKOVICH, A.H., RUDICH, Y., MAENHAUT, W., ARTAXO, P. New analytical method for the determination of levoglucosan, polyhydroxy compounds, and 2-methylerythritol and its application to smoke and rainwater samples, *Environ. Sci. Tech.*, 39, 2005, p. 2744-2752.
- [56] SIMONEIT B.R.T. Biomass burning - a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion, *Appl. Geochem.*, 2002, 17, p. 129-162.
- [57] SIMONEIT, B., MAZUREK, M. Natural organic compounds as tracers for biomass combustion in aerosols, Roc. Chapman Conference, 1995.
- [58] BERGAUFF, M., WARD, T., NOONAN, C., PALMER, C. Determination and evaluation of selected organic chemical tracers for wood smoke in airborne particulate matter, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* Vol. 88, No. 7, 2008, p. 473–486.
- [59] HÄKKINEN, S. *Flavonols and Phenolic Acids in Berries and Berry Products*, 2000, p. 90, ISBN 951-781-801-7.
- [60] SIMONEIT, B. Identification and emission factors of molecular tracers in organic aerosols from biomass burning, part 1. Temperate climate conifers, *Appl. Geochem.*, 2001, 16, p. 1513-1544.
- [61] WAGN, Z. Characterization of organic compounds and molecular tracers from biomass burning smoke in South China I: Broad-leaf trees and shrubs, *Atmos. Environ.*, 43, 2009, p. 3096–3102.
- [62] KRŮMAL, K., MIKUŠKA, P., VOJTĚŠEK, M., VEČEŘA, Z. Seasonal variations of monosaccharide anhydrides in PM1 and PM2,5 aerosol in urban areas, *Atmos. Environ.*, 44, 2010, pp. 5148-5155.
- [63] URL: <<http://www.instrument.com.cn/Quotation/Manual/517262.pdf> > [cit. 2010-11-05]
- [64] PIETROGRANDE, M., BACCO, D. GC-MS analysis of water-soluble organics in atmospheric aerosol: Response surface methodology for optimizing silyl-derivatization

for simultaneous analysis of carboxylic acids and sugars, *Analytica Chimica Acta*, 689, 2011, p. 257-264.

- [65] THOMSEN, V., SCHATZLEIN, D., MERCURO, D. Limits of Detection in Spectroscopy, *Spectroscopy*, 2003, 18, p. 112-114.
- [66] ČHMÚ, pobočka Brno, Kroftova 43, Oddělení meteorologie a klimatologie.
- [67] WAN, E. Analysis of Sugars and Sugars Polyols in Atmospheric Aerosols by Chloride Attachment in Liquid Chromatography/Negative Ion Electrospray Mass Spectrometry, *Environ. Sci. Tech.* 41, 2007, p. 2459-2466.
- [68] KHOPKAR, S. Gas Chromatographic Sugar Analysis in Hydrolyzates of Wood Constituents, *Atmos. Environ.*, 1965, p. 362-364.

9 SEZNAM PŘÍLOH

9.1 Hmotnostní spektra vybraných analyzovaných sloučenin

9.1.1 Hmotnostní spektrum levoglukosanu

9.1.2 Hmotnostní spektrum sacharosy

9.1.3 Hmotnostní spektrum glukosy

9.1.4 Hmotnostní spektrum manitolu

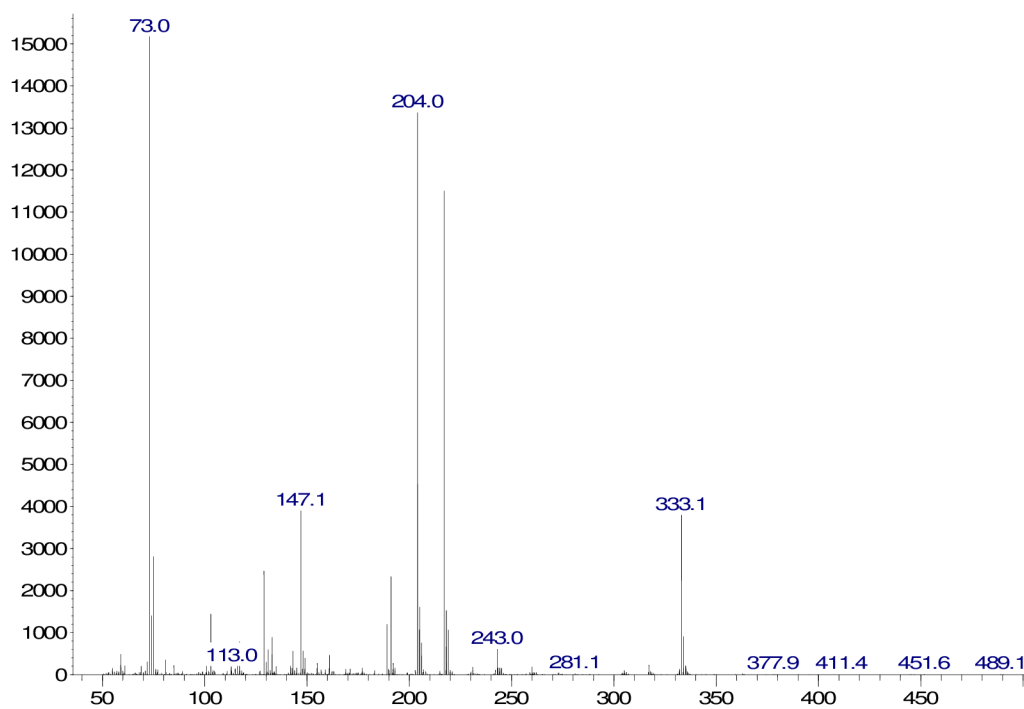
9.1.5 Hmotnostní spektrum kyseliny dehydroabietové

9.2 Chromatogramy

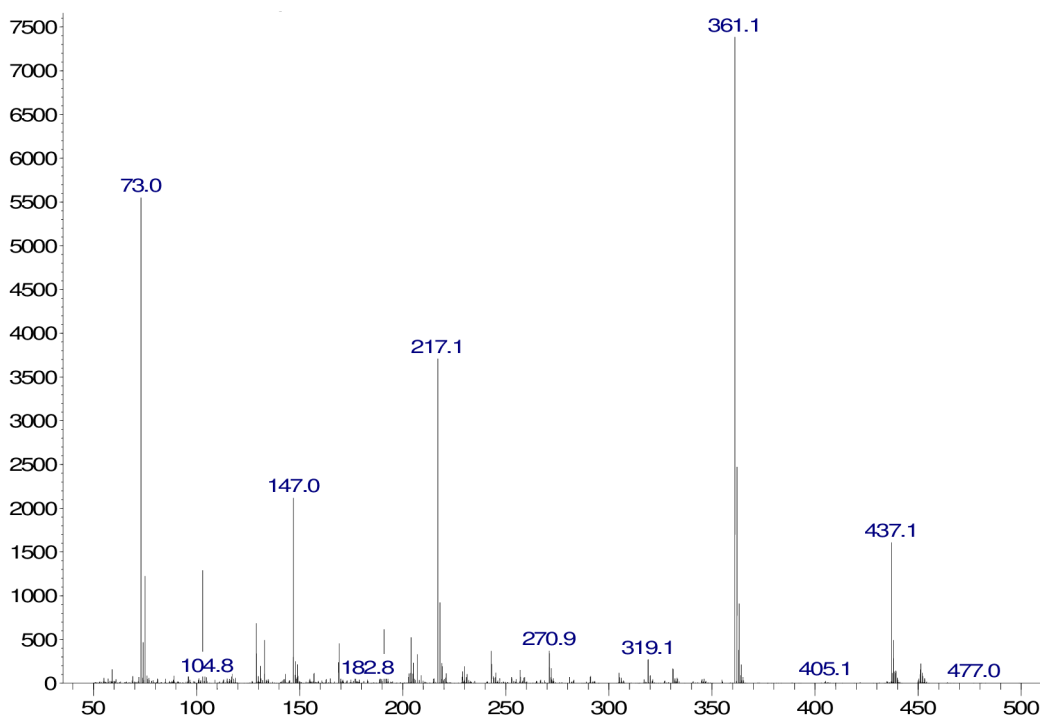
9.2.1 Chromatogram směsi standardů

9.2.2 Chromatogram reálného vzorku - anhydridy monosacharidů a markery spalování dřeva

9.2.3 Chromatogram reálného vzorku - sacharidy

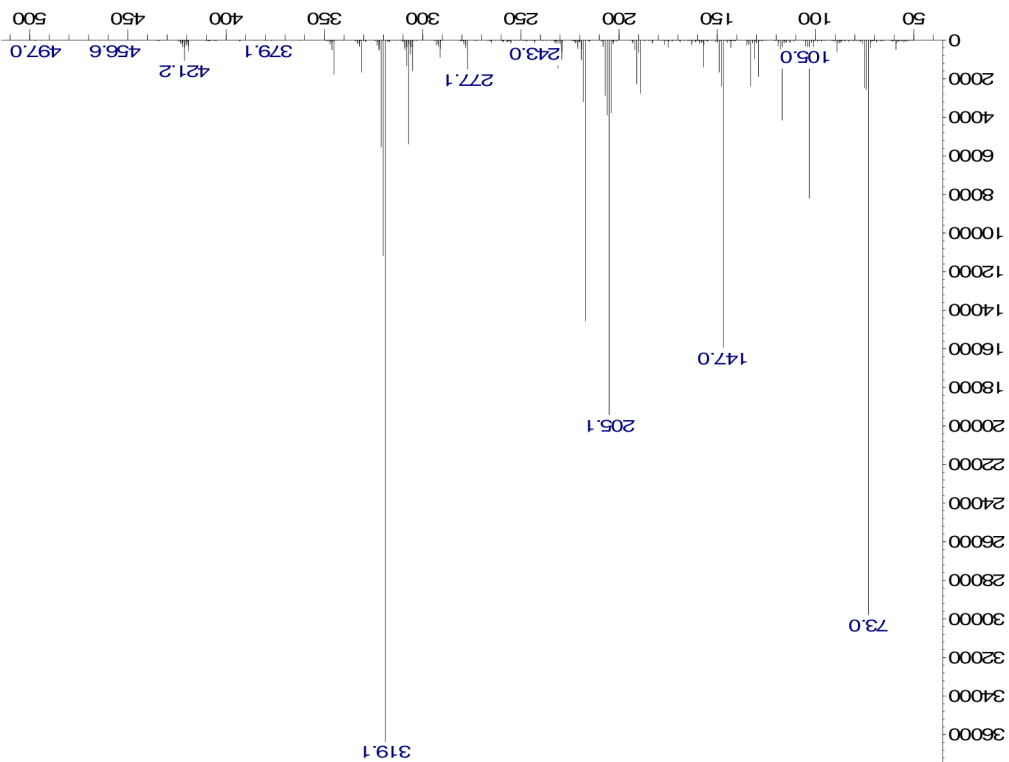


Příloha č. 9.1.1: Hmotnostní spektrum levoglukosanu (anhydrid monosacharidu)

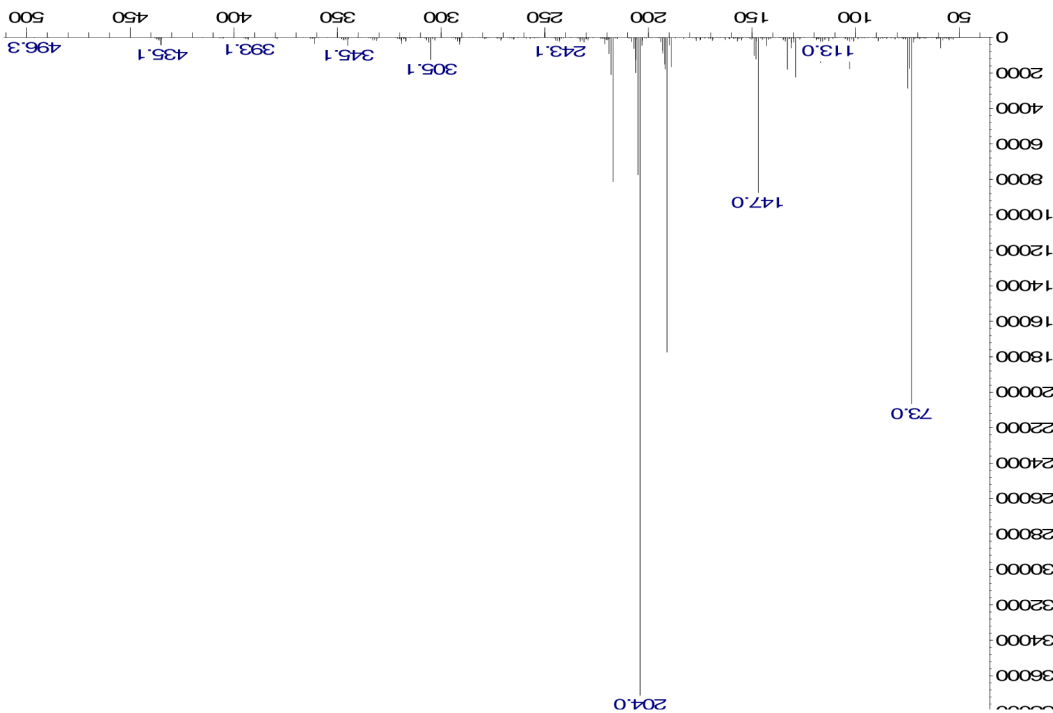


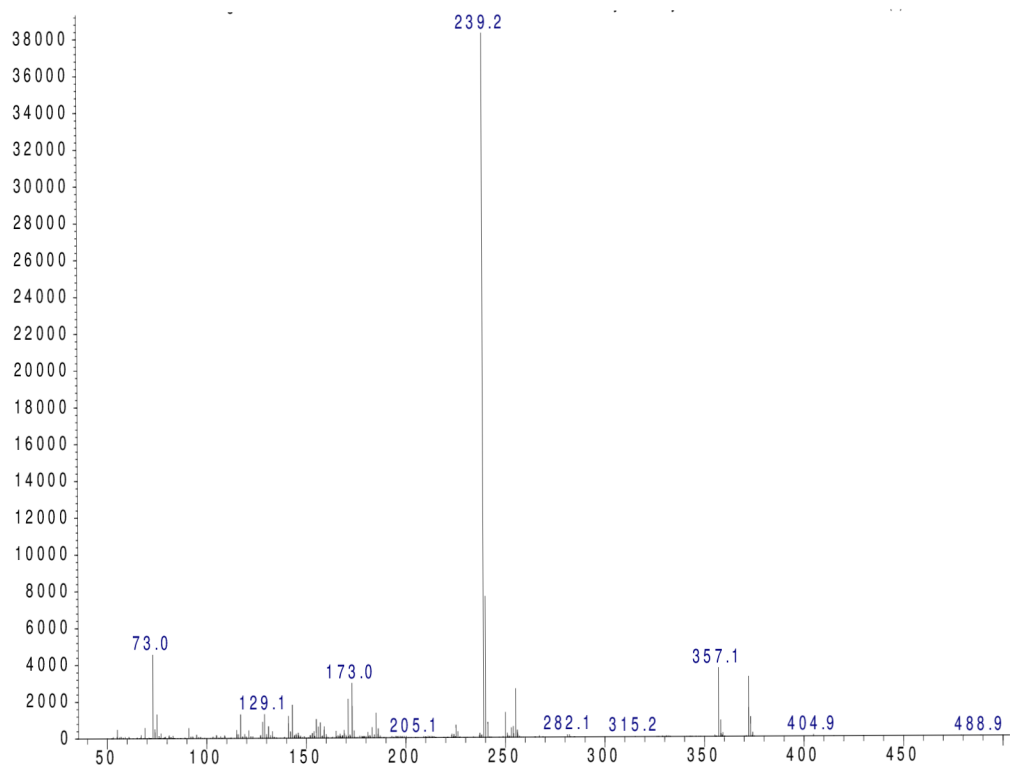
Příloha č. 9.1.2: Hmotnostní spektrum sacharosy (disacharid)

Priloha č. 9.1.4: Hmotnostní spektrum mantolu (alditol)



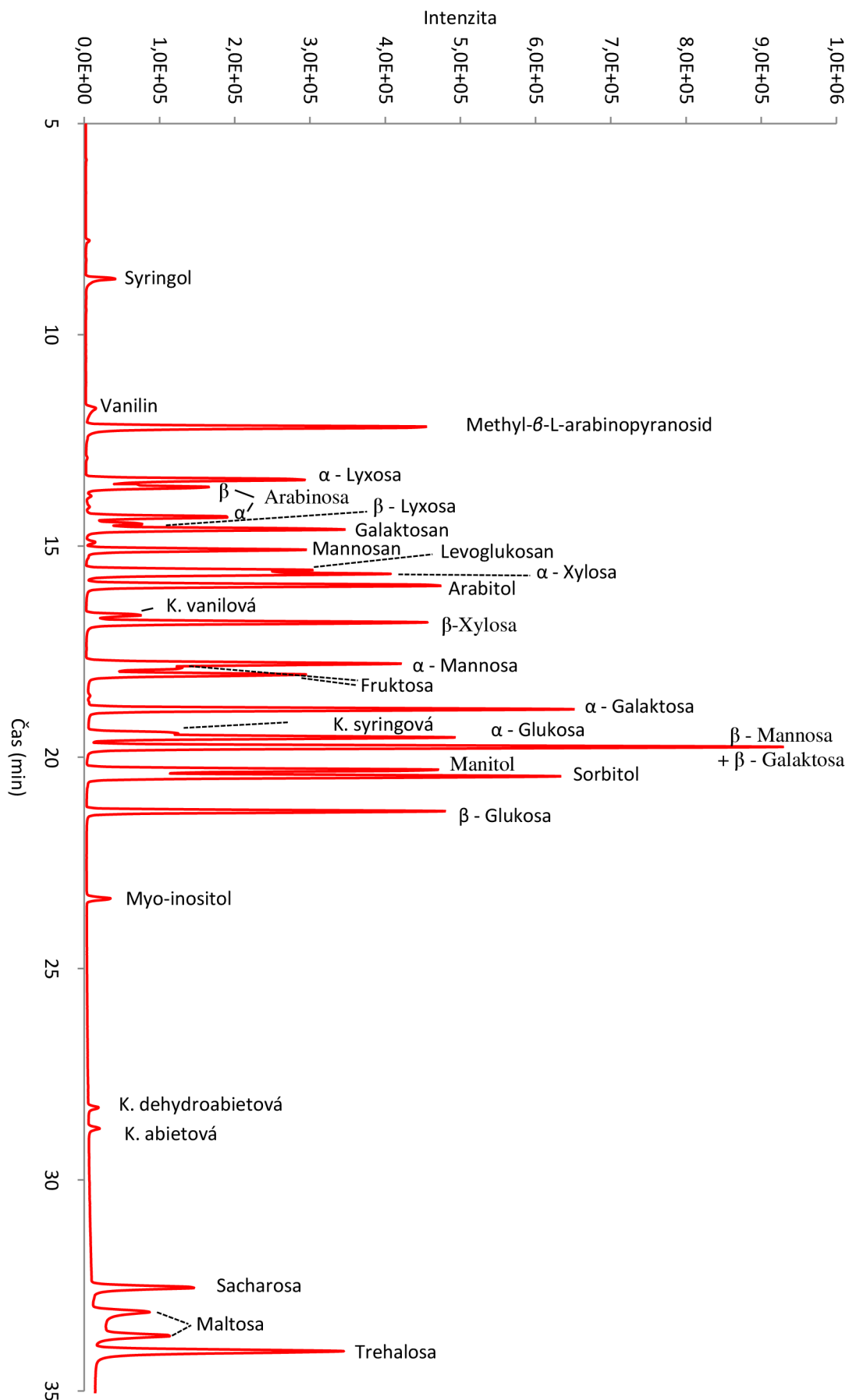
Priloha č. 9.1.3: Hmotnostní spektrum glukosy (monosacharid)

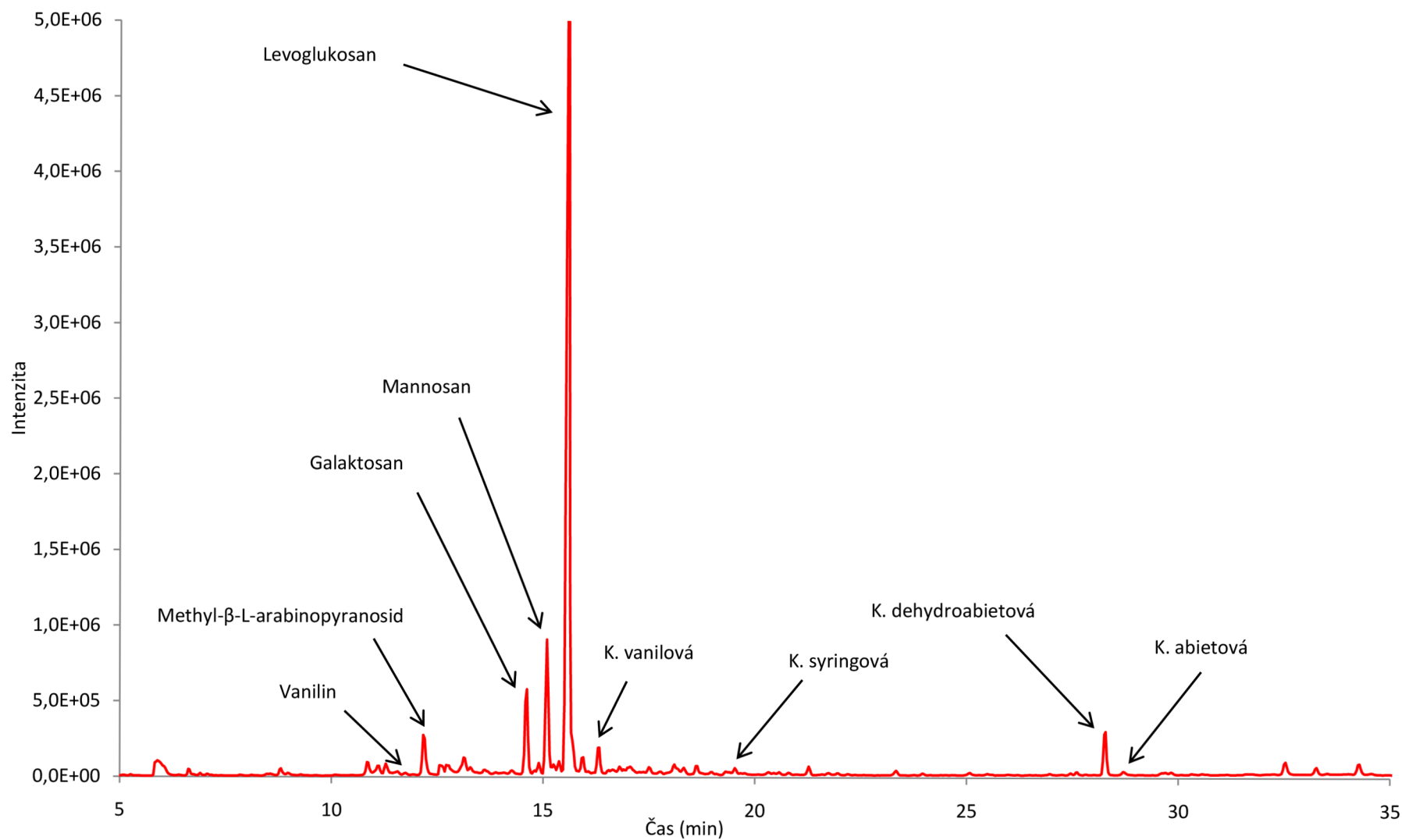




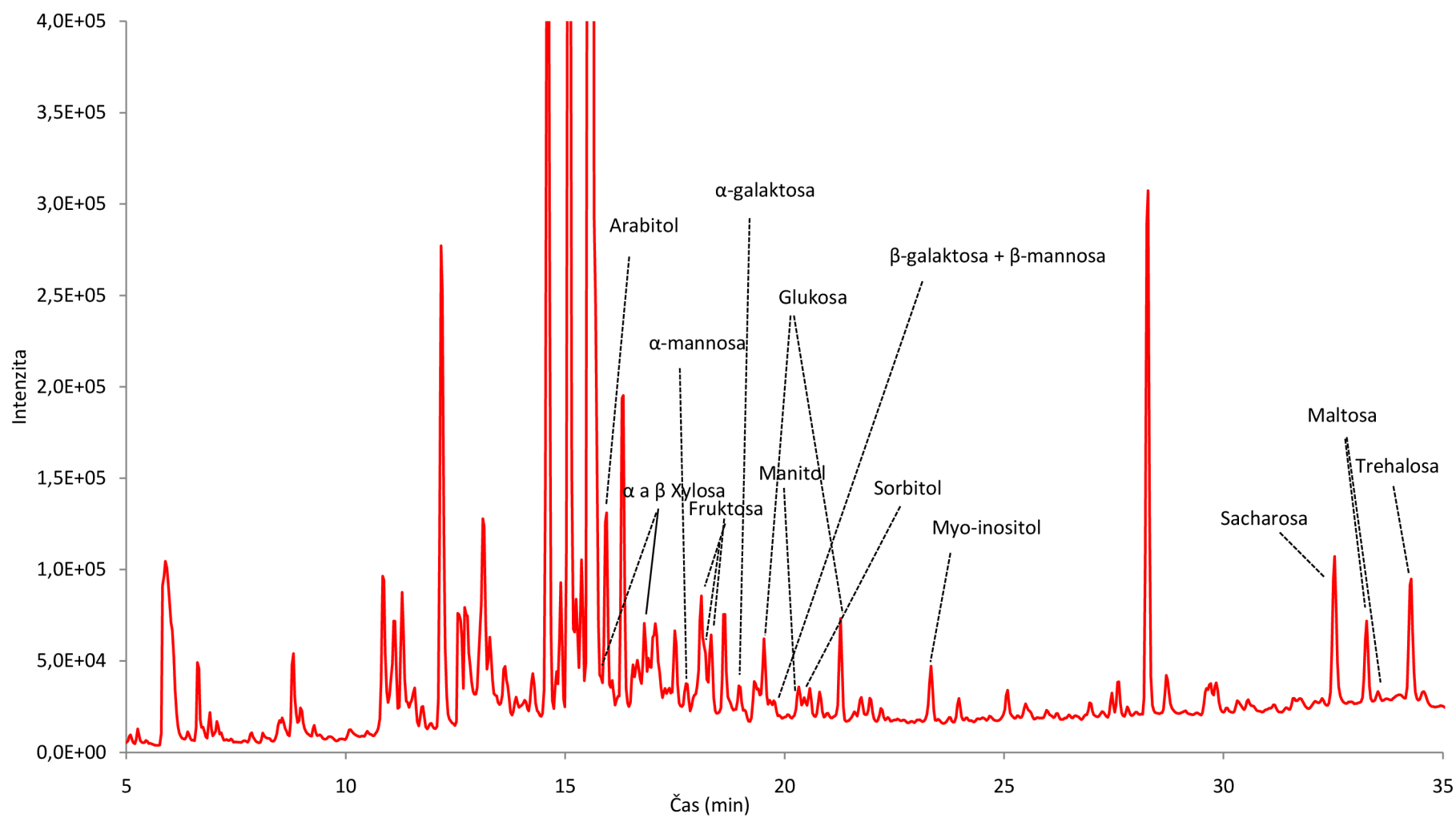
Příloha č. 9.1.5: Hmotnostní spektrum kyseliny dehydroabietové (marker spalování dřeva)

Příloha č. 9.2.1: Chromatogram směsi standardů o koncentraci 5 µg/ml





Příloha č. 9.2.2: TIC chromatogram reálného vzorku (zima 2010): anhydridy monosacharidů, markery spalování dřeva a „recovery“ standard



Příloha č. 9.2.3: TIC chromatogram reálného vzorku (zima 2010): sacharidy

Píky jednotlivých anomerů sacharidů byly v chromatogramu popsány na základě literatury: fruktoza, galaktosa, glukosa a lyxosa [31,68], arabinosa, mannos a xylosa [68].