

# 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

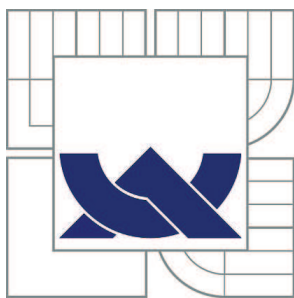
ORGANOHALOGENOVÉ SLOUČENINY - KONTAMINANTY ŽIVOTNÍHO  
PROSTŘEDÍ

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Bc. VERONIKA KOCIÁNOVÁ

BRNO 2013



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

# ORGANOHALOGENOVÉ SLOUČENINY - KONTAMINANTY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

ORGANOHALOGENIC COMPOUNDS - CONTAMINANTS OF ENVIRONMENT

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. VERONIKA KOCIÁNOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2013



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

## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	<b>FCH-DIP0686/2012</b>	Akademický rok: <b>2012/2013</b>
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	<b>Bc. Veronika Kociánová</b>	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	<b>prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.</b>	
Konzultanti:		

### Název diplomové práce:

Organohalogenové sloučeniny - kontaminanty životního prostředí

### Zadání diplomové práce:

1. Vypracovat literární rešerši zaměřenou na přítomnost organohalogenovaných sloučenin typu retardérů hoření ve vybraných maticích.
2. Na podkladě rešerše vybrat vhodné analyty ke sledování v hydrosféře a pedosféře.
3. Provést výběr a optimalizaci vybrané metody na bázi separačních metod.
4. Optimalizovanou metodu použít pro analýzu reálných vzorků odebraných z environmentálních matic.
5. Provést zhodnocení získaných výsledků a jejich interpretaci.

### Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2013

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

-----  
Bc. Veronika Kociánová  
Student(ka)

-----  
prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.  
Vedoucí práce

-----  
doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2013

-----  
prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Polybromované difenyletery patří do skupiny bromovaných retardérů hoření. Důležitou vlastností těchto látek je schopnost snižovat hořlavost, popřípadě zabraňovat vznícení mnoha produktů denní potřeby, např. televizorů, koberců, matrací a dalších. Polybromované difenyletery se však vyznačují také vysokou perzistencí a lipofilitou, což vede k jejich kumulaci v životním prostředí. V posledních letech rostou obavy z účinků těchto organohalogenových sloučenin na zdraví lidí, což naznačuje i jejich zařazení v roce 2009 na seznam perzistentních organických polutantů.

Tyto kontaminanty jsou schopné dálkového transportu a kumulace ve složkách životního prostředí. Proto je výskyt polybromovaných difenyletherů systematicky sledován v abiotických i biotických složkách životního prostředí po celém světě. Jejich přítomnost byla prokázána i v oblastech, které jsou jednoznačně mimo dosah zdrojů kontaminace.

Předložená diplomová práce je zaměřena na využití plynové chromatografie k hodnocení úrovně kontaminace vybraných složek životního prostředí, především půd. Pro tyto účely byla použita metoda plynové chromatografie s detektorem elektronového záchytu a hmotnostním detektorem.

## **ABSTRACT**

Polybrominated diphenyl ethers belong to group of brominated flame retardants. Important property of these substances is their ability to reduce flammability or to prevent ignition of many products of daily use, such as televisions, carpets, mattresses and many others. Polybrominated diphenyl ethers however are characterized by high persistence and lipophilicity, leading to their accumulation in the environment. In recent years, concerns about the effects of organic halogen compounds on human health, suggesting their inclusion in the list of persistent organic pollutants in 2009.

These contaminants are capable of long-range transport and accumulation in the environment. Therefore, the presence of polybrominated diphenyl ethers is systematically observed in the abiotic and biotic components of the environment worldwide. Their presence has been demonstrated in areas that are clearly very distant from sources of contamination.

This thesis is focused on the use of gas chromatography to assess the level of contamination of selected components of the environment, especially of soil. For these purposes was used method of gas chromatography with electron capture detection mass spectrometry.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** polybromované difenyletery, retardéry hoření, separační metody, plynová chromatografie

**KEYWORDS:** polybrominated diphenyl ethers, flame retardants, separation methods, gas chromatography

KOCIÁNOVÁ, V. *Organohalogenové sloučeniny - kontaminanty životního prostředí*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 60 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, 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

### *Poděkování:*

*V první řadě bych chtěla poděkovat vedoucí diplomové práce paní prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za odborné vedení diplomové práce, cenné rady a pomoc při zpracování této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala doktorandům ÚCHTOŽP za ochotu, cenné rady a pomoc během prací v laboratoři.*

*Největší poděkování si zaslouží především mí rodiče a přítel, kteří mě během mých studií ve všem podporovali a byli mi oporou.*

# 1. OBSAH

<b>1. OBSAH</b>	<b>5</b>
<b>2. ÚVOD</b>	<b>7</b>
<b>3. RETARDÉRY HOŘENÍ</b>	<b>8</b>
3.1. MECHANISMUS ÚČINKU RETARDÉRŮ HOŘENÍ	8
3.1.1. FYZIKÁLNÍ PŮSOBENÍ RETARDÉRŮ HOŘENÍ	8
3.1.2. CHEMICKÉ PŮSOBENÍ RETARDÉRŮ HOŘENÍ	8
3.2. TYPY RETARDÉRŮ HOŘENÍ	9
3.2.1. ANORGANICKÉ RETARDÉRY HOŘENÍ	9
3.2.2. ORGANOHALOGENOVANÉ RETARDÉRY HOŘENÍ	10
3.2.2.1. Tetrabromobisfenol A (TBBPA)	11
3.2.2.2. Polybromované bifenyly (PBB)	11
3.2.2.3. Hexabromcyklododekan (HBCD)	12
3.2.2.4. Nové bromované retardéry hoření	13
3.2.3. ORGANOFOSFOROVÉ RETARDÉRY HOŘENÍ	14
3.2.4. RETARDÉRY HOŘENÍ NA BÁZI DUSÍKU	14
<b>4. POLYBROMOVANÉ DIFENYLETHERY</b>	<b>15</b>
4.1. STRUKTURA A NÁZVOSLOVÍ	15
4.2. FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ VLASTNOSTI PBDE	17
4.3. VÝROBA PBDE	18
4.4. POUŽITÍ PBDE	18
4.4.1. DEBDE	18
4.4.2. OBDE	19
4.4.3. PEDE	19
4.5. ZDROJE PBDE V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ	19
4.6. OSUD PBDE V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ	20
<b>5. STANOVENÍ PBDE VE SLOŽKÁCH ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ</b>	<b>22</b>
5.1. ODBĚR VZORKŮ	22
5.1.1. VODA	22
5.1.2. PŮDA	22
5.2. PŘÍPRAVA VZORKU	23
5.2.1. EXTRAKCE KAPALINA – KAPALINA	23
5.2.2. SOXHLETOVA EXTRAKCE	24
5.2.3. TLAKOVÁ EXTRAKCE ROZPOUŠTĚDLEM (PSE, ASE)	24
5.2.4. ULTRAZVUKOVÁ EXTRAKCE (USE)	25
5.2.5. MIKROVLNNÁ EXTRAKCE	25
5.2.6. SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE	25
5.3. PŘEČIŠTĚNÍ EXTRAKTŮ	26

5.3.1. ADSORPČNÍ CHROMATOGRRAFIE	26
<b>5.4. PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE</b>	<b>26</b>
5.4.1. PLYNOVÝ CHROMATOGRAF	26
5.4.2. DETEKTORY	28
5.4.2.1. Detektor elektronového záchytu (ECD)	28
5.4.2.2. Hmotnostní spektrometrie	29
5.4.3. SPOJENÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRRAFIE A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE (GC/MS)	31
5.4.4. ORTHOGONÁLNÍ DVOJROZMĚRNÁ PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE S HMOTNOSTNÍ DETEKČÍ (GCxGC-TOF MS)	31
<b><u>6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</u></b>	<b><u>33</u></b>
6.1. POUŽITÉ PŘÍSTROJE A ZAŘÍZENÍ	33
6.2. POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A STANDARDY	33
6.3. NASTAVENÍ PŘÍSTROJŮ	34
6.4. OPTIMALIZACE STANOVENÍ	35
6.4.1. OPTIMALIZACE NASTAVENÍ PŘÍSTROJŮ	35
6.4.2. OPTIMALIZACE EXTRAKCÍ	35
6.4.2.1. Extrakce ultrazvukem	35
6.4.2.2. Tlaková extrakce rozpouštědlem	35
6.4.3. ADSORPČNÍ CHROMATOGRRAFIE	36
6.4.4. KALIBRACE	36
6.4.5. STANOVENÍ SUŠINY	36
<b><u>7. VÝSLEDKY A DISKUZE</u></b>	<b><u>37</u></b>
7.1. EXTRAKCE ULTRAZVUKEM	37
7.2. TLAKOVÁ EXTRAKCE ROZPOUŠTĚDLEM	39
7.3. ADSORPČNÍ CHROMATOGRRAFIE	42
7.4. KALIBRACE	42
7.5. STANOVENÍ SUŠINY PŮDY	44
7.6. REÁLNÉ VZORKY	44
<b><u>8. ZÁVĚR</u></b>	<b><u>47</u></b>
<b><u>9. POUŽITÁ LITERATURA</u></b>	<b><u>49</u></b>
<b><u>10. POUŽITÉ ZKRATKY</u></b>	<b><u>54</u></b>
<b><u>11. PŘÍLOHY</u></b>	<b><u>55</u></b>

## 2. ÚVOD

Vývoj a zavádění nových chemických látek přináší sebou vesměs řadu výhod a prospěšných účinků. Všude kolem nás nacházíme produkty chemického průmyslu, které jsou pro lidstvo přínosné. Plastové výrobky, kosmetika, léčiva, motorová paliva – to všechno dnes běžně používáme. Většina lidí však ani netuší, co všechno tyto produkty obsahují. Dříve se při zavádění chemických látek do oběhu nepřemýšlelo o jejich účincích a dopadech na obyvatele a na životní prostředí. Příkladem může být třeba zavedení pesticidu DDT. Jeho objevitel za něj dokonce obdržel i Nobelovu cenu. Tato nebezpečná látka se dříve hojně používala jako insekticid k hubení hmyzích škůdců v zemědělství a především k likvidaci komárů v tropických oblastech. Tehdy ovšem lidé ocenili pouze jeho pozitivní vlastnosti a účinky. Postupem času se však prokázaly nebezpečné vlastnosti tohoto pesticidu, zejména jeho chronická toxicita. V současné době je jeho použití ve většině zemí, především v Evropě, zakázáno. A podobných příkladů bychom našli více.

Dnes se chemické látky vyskytují prakticky ve všem, co nás obklopuje. Jedná se o nábytek, automobily, oblečení i kosmetiku. To je jen malý výčet z obrovské škály výrobků. Předložená diplomová práce je zaměřena na sledování a hodnocení kontaminace životního prostředí organohalogenovými sloučeninami, zejména polybromovanými difenylethery, používanými jako retardéry hoření. Tyto látky byly v minulém století hojně používány právě pro své retardační vlastnosti. V roce 2009 však byly tyto chemické sloučeniny připsány na seznam prioritních organických polutantů, a proto jsou dnes sledovány nejen ve složkách životního prostředí, ale také v potravinách a potravinových doplňcích.

Tato diplomová práce je rozdělena do dvou částí: teoretické a experimentální. Hlavním cílem teoretické části bylo vypracování literární rešerše, která je zaměřena na přítomnost organohalogenovaných retardérů hoření ve složkách životního prostředí a na výběr vhodné separační metody pro stanovení těchto kontaminantů ve vybraných matricích odebraných ze životního prostředí. V experimentální části diplomové práce byla pozornost věnována především optimalizaci analytické metody, která byla následně použita pro stanovení vybraných kontaminantů v reálných vzorcích půdy.



### 3. RETARDÉRY HOŘENÍ

Retardéry hoření jsou chemické sloučeniny, které se používají pro zpomalení procesu hoření, popřípadě k zabránění vznícení daného materiálu. Zabráněním vzniku a rozšíření požáru tak chrání nejen životy lidí, ale zejména i jejich majetek. První myšlenka a potřeba omezení hořlavosti materiálů se datuje přibližně do období kolem roku 450 let před Kristem. Tehdy staří Egypťané používali kamenec k potlačení hořlavosti dřeva. Později, kolem roku 200 před Kristem, využívali Římané ke snížení hořlavosti dřeva převážně směs kamence a octa. V současnosti se retardéry hoření přidávají do materiálů, které jsou součástí většiny domácností, kanceláří nebo automobilů. Jedná se o různé textilie (např. koberce, záclony, potahy na sedačky, oděvy), plasty (kryty televizorů, počítače, kancelářská zařízení), případně nátěrové hmoty [1].

#### 3.1. Mechanismus účinku retardérů hoření

Hlavní funkcí retardérů hoření je potlačení hoření určitých materiálů. Působením vyšších teplot mohou být výrobky vytvořené z přírodních nebo syntetických polymerů zapáleny. K zapálení může dojít buď spontánně, nebo zažehnutím z vnějšího zdroje (např. jiskrou, plamenem). Retardéry hoření mohou během hoření podstatně ovlivňovat chemické a fyzikální procesy, které probíhají v pevné, kapalně nebo plynné fázi [2].

Celý proces hoření se rozděluje na čtyři části, a to na přehřev, rozklad, zapálení a vlastní hoření. Během přehřevu dochází ke zvyšování teploty materiálu v závislosti na tepelné intenzitě zápalného zdroje, tepelné vodivosti materiálu, měrném teple materiálu a teple tání a vypařování daného materiálu. Pokud se materiál ohřeje na dostatečnou teplotu, začne se pomalu rozkládat, čímž dojde k přetržení nejslabších vazeb. Materiál ztrácí své původní vlastnosti a vznikají hořlavé plyny, jejichž koncentrace postupně roste. V určitém okamžiku dojde k dosažení limitu, při kterém nastane oxidace plynů za přítomnosti vnějšího zápalného zdroje. Po zapálení a odstranění vnějšího zdroje probíhá proces hoření. Hoření je ovlivňováno několika faktory, např. mírou vzniklého tepla, mírou přenosu tepla k povrchu, plochou povrchu a stupněm rozkladu. Ovlivněním těchto faktorů může být proces hoření omezen nebo potlačen. Přítomností retardérů hoření mohou být jednotlivé fáze procesu ovlivněny [1, 2].

##### 3.1.1. Fyzikální působení retardérů hoření

Ke zpomalení procesu hoření může docházet několika způsoby. První možností je tzv. chlazení. Použití přísady ochladí substrát na teplotu, která je nižší než teplota potřebná k udržení procesu hoření. Vytvoření ochranné vrstvy na povrchu materiálu má několik účinků, např. snížení teploty, vyvíjení menšího množství hořlavých plynů, narušení přenosu tepla a zabránění přístupu kyslíku. Začlenění inertních látek a přísad do materiálů vede k tomu, že se během rozkladu vyvíjejí i inertní plyny, které ředí palivo v pevné a plynné fázi. Tím je zabráněno překročení limitu, potřebného k zapálení materiálu [2].

##### 3.1.2. Chemické působení retardérů hoření

Nejvýznamnější chemické reakce retardérů hoření probíhají v plynné nebo pevné fázi. V plynné fázi probíhá spalovací proces působením volných radikálů. Retardéry hoření vychytávají volné radikály a tak přerušují probíhající proces. Systém se ochladí a množství hořlavých plynů je redukováno. Prostřednictvím retardérů hoření může být urychleno porušení polymeru, který je pak odtažen z oblasti ovlivňované plamenem. Další možností je vytvoření uhlíkové vrstvy prostřednictvím retardéru na povrchu daného polymeru. Tvorbou filmu na povrchu materiálu se sníží tepelná vodivost, popřípadě se zvýší odrazivost. Tím se

sníží míra ohřívání daného materiálu. Jednou z možností, jak omezit rozkladné procesy, může být například výběr chemicky odolných složek nebo úprava struktury polymeru [2].

Obecně lze říci, že pokud se podaří zabránit vzniku hořlavé směsi plynů, pak se zabrání také zapálení materiálu. Proto se používají retardéry hoření, které působením vyšší teploty uvolňují těkavé látky, které mohou reagovat v plynné fázi a přispět tak k potlačení zapálení materiálu [2].

Retardéry hoření účinkují v kondenzované nebo v plynné fázi. Působení retardérů v kondenzované fázi je typické pro fosforové sloučeniny. Jejich účinky mohou být synergisticky zvýšeny přidávkem některých dusíkatých sloučenin, například melaminu a močoviny. Fosforové a organofosforové sloučeniny jsou obvykle součástí celulózy a termoplastů [2].

Během zahřívání hořlavých materiálů vznikají vodíkové, kyslíkové, hydroxidové a peroxidové radikály, které jsou následně oxidovány. Některé retardéry hoření vychytávají volné radikály a zabraňují jejich oxidaci. Za neúčinnější jsou považovány právě sloučeniny bromu. Ty uvolňují bromovodík, který pak v plynné fázi reaguje s volnými radikály [1, 2, 3].

Rozhodujícím faktorem ovlivňujícím účinnost daného retardéru hoření je jeho tepelná stabilita, a to v porovnání s polymerem, k němuž je retardér přidáván. Teplota rozkladu retardéru hoření by měla být alespoň o 50 °C nižší než teplota rozkladu daného polymeru. Vzhledem k relativně nízké vazebné energii mezi uhlíkem a bromem dochází k rozkladu bromovaných sloučenin při teplotě okolo 200 – 300 °C. Teplota rozkladu běžně používaných polymerů je v porovnání s bromovanými retardéry mnohem vyšší. Proto jsou, a to v porovnání s chlorovanými sloučeninami, bromované sloučeniny účinnějšími retardéry hoření [2, 3].

V některých případech se rovněž používají látky potlačující kouř. Tyto látky působí v plynné nebo kondenzované fázi. V kondenzované fázi se často využívá tvorby povlaků nebo ředění přidávkem inertních plniv, čímž se omezí tvorba produktů pyrolýzy, tj. i kouře. V plynné fázi se potom ředí kouřové plyny, popřípadě se eliminují saze nebo jejich prekurzory [2].

### **3.2. Typy retardérů hoření**

Retardéry hoření se dělí na dvě podskupiny v závislosti na způsobu, jakým je retardér začleněn do polymerní struktury. Reaktivní retardéry, např. tetrabrombisfenol A (TBBPA), jsou chemicky vázány pevnou kovalentní vazbou na polymerní strukturu. Tyto sloučeniny se proto málo uvolňují do životního prostředí. Naproti tomu aditivní retardéry hoření jsou pouze smíchány s daným polymerem, čímž dochází ke snadnému uvolňování těchto kontaminantů a k jejich následnému hromadění ve složkách životního prostředí. Do skupiny aditivních retardérů hoření patří zejména polybromované bifenyle (PBB), polybromované difenylethery (PBDE) a hexabromcyklododekan (HBCD) [1, 2, 3].

V současnosti se rozlišují čtyři hlavní skupiny retardérů hoření, a to anorganické, halogenované, organofosforové a retardéry na bázi dusíku.

#### **3.2.1. Anorganické retardéry hoření**

Hlavními zástupci anorganických retardérů hoření jsou hydroxidy kovů, které se používají samostatně nebo v kombinaci s jinými retardéry k dosažení lepší účinnosti. Hydroxidy kovů účinkují v kondenzované i v plynné fázi. Absorpcí tepla a uvolňováním vody chladí proces hoření a ředí směs hořlavých plynů. Hydroxid hlinitý a hydroxid hořečnatý jsou hlavními zástupci této skupiny. Hydroxid hlinitý se rozkládá již při teplotách nad 200 °C, což značně limituje jeho použití. Naopak hydroxid hořečnatý je stálý do teplot převyšujících 300 °C, a proto bývá používán v několika polymerech [1, 2].

Další skupinu anorganických retardérů hoření tvoří sloučeniny antimonu. Oxid antimonový se vyznačuje synergistickými účinky a je součástí plastů, pryží, textilií, papíru a barev. Aby mohly oxidy antimonu a antimoničnany správně působit, musí být převedeny do plynné fáze. Z tohoto důvodu jsou používány v kombinaci s halogenovými sloučeninami, které při teplotách plamene uvolňují halogenové kyseliny reagující s antimonem obsaženým v daném materiálu. Touto reakcí vznikají trihalogenidy a halogen oxidy antimonu, tj. inertní plyny, které tvoří jakousi „deku“ nad substrátem. Inertní plyny zamezí přístupu kyslíku a tak zabrání dalšímu rozšíření ohně. Oxid antimoničný nachází uplatnění především v průmyslu zpracovávajícím vlákna a tkaniny. Antimoničnan sodný se používá tam, kde je zapotřebí docílit sytých barevných odstínů, případně kde by oxid antimoničný podporoval nežádoucí chemické reakce [2].

Ze sloučenin boru jsou významnými zástupci kyselina boritá a tetraboritan sodný (borax). Obě sloučeniny jsou rozpustné ve vodě, což omezuje jejich použití. Obvykle jsou používány v celulóznych materiálech, např. v bavlně nebo papíru. Boritan zinečnatý je ve vodě nerozpustný, a proto je hojně používán v plastových a pryžových výrobcích. Boritan zinečnatý vykazuje synergistické účinky v kombinaci s oxidy antimonu a může působit jako retardér hoření nebo jako látka potlačující kouř [2].

Červený fosfor a polyfosforečnan amonný patří do skupiny anorganických fosforových retardérů. Červený fosfor se během hoření oxiduje na kyselinu fosforečnou nebo na oxid fosforečný. Červený fosfor bývá součástí polyamidů. Polyfosforečnan amonný je aplikován v nátěrových hmotách a v barvách na ochranu dřeva a plastů [2].

### 3.2.2. Organohalogenované retardéry hoření

Organohalogenové sloučeniny patří do skupiny látek, které se vyznačují pevnou vazbou mezi halogenovým prvkem a uhlíkem. Do této skupiny kontaminantů lze zařadit halogenované alkyly, alkeny a alkiny, alkoholy, aminy, aromatické sloučeniny, cykloalkany a cykloalkeny, ethery a heterocyklické sloučeniny. Mezi významné kontaminanty této skupiny patří nejen již výše zmíněné DDT, ale především polychlorované bifenyly a difenylethery, případně polybromované bifenyly a difenylethery.

Rozlišují se aromatické, alifatické a cykloalifatické halogenované retardéry hoření. Jednotlivé retardéry se liší svou tepelnou stabilitou. Obecně jsou aromatické bromované sloučeniny stabilnější než chlorované alifatické sloučeniny, které jsou však odolnější, než bromované alifatické sloučeniny. Vzhledem k nižší tepelné stabilitě bývají proto k alifatickým sloučeninám přidávány stabilizátory [1, 2, 3].

Halogeny velmi účinně zachycují volné radikály, které vznikají během procesu hoření. Tím dochází k účinnému zabránění dalšího rozšiřování ohně. Účinnost eliminace volných radikálů roste s velikostí halogenu, avšak ne všechny prvky této skupiny jsou vhodné pro použití jako retardéry hoření. Vazba mezi fluorem a uhlíkem je velmi pevná, fluorované sloučeniny jsou proto velmi stabilní a rozkládají se při vysokých teplotách. Uvolněné halogeny tak účinkují příliš pozdě. Naproti tomu sloučeniny jodu jsou nestabilní a rozkládají se již při mírně zvýšených teplotách. Proto je použití sloučenin fluoru a jodu jako retardérů hoření nevhodné. Organobromované sloučeniny se naopak vyznačují vyšší účinností eliminace volných radikálů a nižší dekompoziční teplotou v porovnání s organochlorovanými sloučeninami. To je také hlavní důvod, proč jsou jako retardéry hoření nevhodnější a nejpoužívanější právě organobromované sloučeniny. Sledování jejich průniku do vybraných složek životního prostředí bylo hlavním tématem této diplomové práce [1].

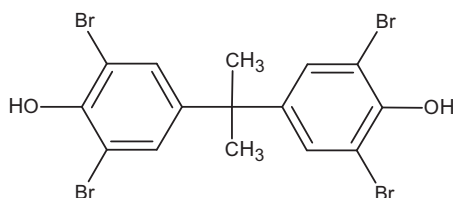
Mezi hlavní zástupce bromovaných retardérů hoření patří především tetrabrombisfenol A, polybromované bifenyly, hexabromcyklododekan a polybromované difenylethery, kterým je dále v této práci věnována větší pozornost.

### 3.2.2.1. Tetrabrombisfenol A (TBBPA)

Tetrabrombisfenol A je bílý až bezbarvý krystalický prášek, který se vyznačuje slabým charakteristickým zápachem. Ve vodě je velmi málo rozpustný, avšak výborně se rozpouští v methanolu nebo acetonu. Vzhledem k jeho špatné rozpustnosti ve vodě se v přírodě vyskytuje vázaný především v sedimentech, popřípadě v organických složkách půdy. V životním prostředí může docházet k methylaci fenolické skupiny ve struktuře tetrabrombisfenolu A, který je pravděpodobně metabolizován mikroorganismy v sedimentech. Tímto způsobem postupně vzniká dimethylether (Me<sub>2</sub>-TBBPA), který je však mnohem lipofilnější a kumuluje se v sedimentech a rybách [4, 5, 6].

Přibližně 90 % TBBPA je používáno jako reaktivní retardér v epoxidových a polykarbonátových pryskyřicích, zbylých 10 % představují deriváty TBBPA. Konkrétně lze uvést, že např. dimethyl TBBPA je používán jako aditivní retardér v akrylonitril-butadienstyrenových pryskyřicích, zatímco další derivát, bis(2-hydroxyethyl ether) TBBPA, je součástí lepidel a nátěrů [1].

TBBPA má podobnou strukturu jako tyroxin, hormon produkovaný ve štítné žláze; TBBPA se váže na transportní protein transtyrelin silněji než tyroxin [1].



Obrázek 1: Strukturální vzorec tetrabrombisfenolu A

### 3.2.2.2. Polybromované bifenyly (PBB)

Jednotlivé polybromované bifenyly vznikají substitucí vodíků atomy bromu ve struktuře bifenyly. Teoreticky může vzniknout až 209 kongenerů, stejně jako je tomu u polychlorovaných bifenyly. Tyto sloučeniny jsou vyráběny Friedel-Craftsovou reakcí, během níž reaguje bifenyly s bromem buď za přítomnosti, nebo bez přítomnosti organického rozpouštědla. Tato reakce je katalyzována chloridem hliníkovým (AlCl<sub>3</sub>), bromidem hliníkovým (AlBr<sub>3</sub>), případně železem [7].

Polybromované bifenyly jsou pevné látky s nízkou těkavostí, která klesá s rostoucím počtem atomů bromu v molekule. Tyto sloučeniny se vyznačují nerozpustností ve vodě, perzistencí a relativní stabilitou. Jsou velmi odolné vůči působení kyselin a zásad, teploty a oxidačních a redukčních činidel. Kromě toho jsou rozpustné v tucích a některých organických rozpouštědlech, a to v závislosti na stupni bromace; s rostoucím počtem bromů klesá jejich rozpustnost [7].

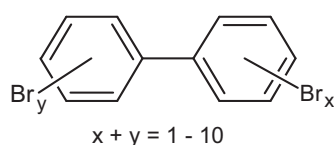
Tyto látky nejsou přírodního původu, jsou důsledkem antropogenní činnosti člověka. Jako retardéry hoření byly poprvé použity na počátku 70. let 20. století. V životním prostředí se některé kongenery hromadí zejména v sedimentech a lipidických složkách bioty. Bylo prokázáno, že tyto kontaminanty byly již detekovány v jednotlivých člácích potravního řetězce [1, 7].

Komerčně jsou vyráběny technické směsi polybromovaných bifenyly. Jedná se o hexa-, okta/nona- a deka-PBB. Tyto komerčně vyráběné směsi jsou bílé, bezbarvé, popřípadě béžové práškovité látky. Jednotlivé technické směsi se liší svým složením a zastoupením jednotlivých kongenerů [7].

V roce 1973 došlo v Michiganu (USA) k neúmyslnému přimíchání polybromovaných bifenyly do krmiva pro dobytek a drůbež. Následkem této nešťastné události došlo

ke kontaminaci masa, mléka a vajec. Vzhledem k tomu, že byla kontaminace těmito látkami zjištěna až po delší době, došlo k expozici obyvatel. Uvádí se, že bylo exponováno až devět milionů lidí. Tato nehoda vedla k tomu, že v roce 1974 bylo v USA zakázáno použití polybromovaných bifenyľů jako retardérů hoření [1, 5, 7].

Hexabrombifenyl je prmyslov chemikálie, kter se vyznačuje vysokou perzistencí v životním prostředí, vysokou bioakumulací a schopností dlkovho transportu. Patří mezi možd lidsk karcinogeny a m rovněd další toxick uinky. Na základě toho byl v roce 2009 zařazen na seznam perzistentních organických polutantů. V Evropě a v Severní Americe je poudt hexabrombifenyľu zakázáno. Uvádí se, že uinky 3,3',4,4',5,5'-hexabrombifenyľu, ve kterm nejsou atomy bromu navázány v ortho pozici na ddnm kruhu, jsou velmi toxick. Naproti tomu 2,2',4,4',5,5'-hexabrombifenyl je relativn mlo toxick. To naznačuje, že toxicita polybromovaných bifenyľů uzce souvisí s polohou atomů bromu na obou fenylových kruzích. Produkce technického dekabrombifenyľu byla v Evropě ukončena jd v roce 2000 [3, 5, 8].



**Obrázek 2: Struktur vzorec polybromovaných bifenyľů**

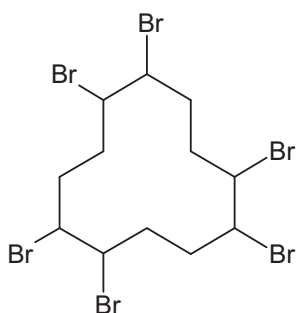
### **3.2.2.3. Hexabromcyklododekan (HBCD)**

Tato sloučenina je za normálních podmínek bl krystalick nebo prdkovit látka. Díky své nízké rozpustnosti ve vodě a odolnosti vůči přírodním degradačním procesům se tato chemikálie hromad v životním prostředí především v sedimentech a v půdě. Pokud jde o dvočichy, byla prokázána kumulace hexabromcyklododekanu v tukových tkáních (např. v játrech, ledvinách) [2].

Toxick uinky hexabromcyklododekanu se projevují neurobehaviorálními změnmi a působením na játra a thyroidn hormony [9, 10]

Od 80. let minulého století je tato sloučenina poudvna jako aditivní retardér hoření. Komerčně je tato cyklick sloučenina vyráběna bromac cyklododekatrienu. Touto reakcí vzniká směs 3 izomerů – alfa, beta a gama, přčemd gama izomer je hlavním produktem. Hexabromcyklododekan je součástí stavebních materiálů (nejčastěd polystyrenových pěn), čalouněného nábytku, textilu, automobilových sedaček a potahů [1, 2, 5].

Přítomnost hexabromcyklododekanu byla prokázána v arktických oblastech. Tento polutant byl detekován ve vzorcích vzduchu, sedimentů, mořských dvočich i polárních medvěd. Gama izomer se vyskytoval zejména ve vzduchu a alfa izomer v biotě; podobn zastoupen všech izomerů bylo identifikováno takě v mořských sedimentech. Stejně jako polybromované difenyletery podlěh i hexabromcyklododekan dlkovmu transportu přstřednictvm ovzduší [11].



**Obrázek 3: Strukturní vzorec hexabromcyclododekanu**

### 3.2.2.4. Nové bromované retardéry hoření

V posledních desetiletích roste snaha nahradit stávající retardéry hoření novými, které by měly být šetrnější k životnímu prostředí. Mezi nejvýznamnější zástupce této skupiny retardérů hoření patří především dekabromdifenyl ethan (DBDPE), hexabrombenzen (HxBBz), pentabrommethylbenzen (PBEB), pentabromtoluen (PBT) a mnoho dalších. Strukturní vzorce těchto chemických sloučenin jsou prezentovány na obrázku č. 4. Všechny tyto výše specifikované sloučeniny patří do skupiny aditivních retardérů hoření [11].

Název	Strukturní vzorec
Dekabromodifenyl ethan (DBDPE)	
Hexabrombenzen (HxBBz)	
Pentabromoethylbenzen (PBEB)	
Pentabromtoluen (PBT)	

**Obrázek 4: Strukturní vzorce vybraných nových bromovaných retardérů hoření [11]**

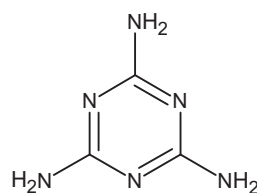
Dekabromdifenyl ethan je prodáván pod obchodním názvem Saytex 8010 a je součástí tzv. „high impact“ polystyrenu a kabelových izolačních materiálů. Dekabromdifenyl ethan by měl postupně nahradit DecaBDE. Hexabrombenzen je používán zejména v Japonsku, kde je přidáván do papírových, plastových a elektronických produktů. Pentabrommethylbenzen se převážně používá v termosetech, termoplastech, textiliích, lepidlech a je přidáván do polyurethanu. Pentabromtoluen lze detekovat v textiliích, polyesterových pryskyřicích a nátěrových emulzích [11, 12].

### 3.2.3. Organofosforové retardéry hoření

Fosfor je v porovnání s bromem mnohem účinnějším retardérem a bylo prokázáno, že použití jeho sloučenin je rovněž šetrnější vůči životnímu prostředí, protože se jedná především o sloučeniny vesměs netoxické a biologicky odbouratelné. Tato skupina retardérů hoření se rozděluje na nehalogenované a halogenované retardéry hoření. Mezi aditivní nehalogenované retardéry můžeme zařadit například fosfátové estery (trialkylové, triarylové nebo aryl-alkylové deriváty). Halogenované fosforové retardéry našly široké uplatnění v aplikační sféře, protože kombinují vlastnosti halogenové i fosforové skupiny. Jako příklad lze uvést tris(1-chloro-2-propyl) fosfát, který je součástí polyuretanových pěn, případně tris(2-chlorethyl) fosfát, přidávaný především do polyakrylátových nebo celulózních derivátů. Další sloučenina této skupiny, tris(2,3-dibromopropyl) fosfát, byla v mnoha zemích stažena z trhu, neboť vykazuje karcinogenní vlastnosti [2].

### 3.2.4. Retardéry hoření na bázi dusíku

Tyto retardéry jsou obvykle používány v polymerech obsahujících ve své struktuře dusík, např. v polyurethanech nebo polyamidech. Nejpoužívanějšími zástupci těchto retardérů jsou melamin, melamin kyanurát, deriváty melaminu nebo guanidinové sloučeniny. Melamin je aditivní retardér, který se přidává do polypropylenu nebo polyethylenu. Melamin během hoření sublimuje a spotřebovává obrovské množství energie, čímž dochází ke snížení teploty. Deriváty melaminu jsou velmi často přidávány do tereftalátů nebo do epoxidových a polyuretanových pryskyřic [1, 2].

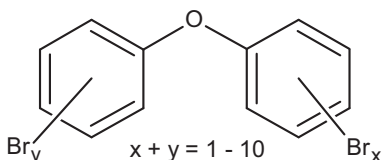


**Obrázek 5: Strukturní vzorec melaminu**

## 4. POLYBROMOVANÉ DIFENYLETHERY

### 4.1. Struktura a názvosloví

Základní struktura polybromovaných difenyletherů je tvořena dvěma fenylovými kruhy, které jsou spojeny etherovou vazbou. Molekula difenyletheru obsahuje ve své struktuře deset atomů vodíku, které mohou být nahrazeny jedním až deseti atomy bromu. Polybromované difenyletery jsou charakterizovány sumárním vzorcem  $C_{12}H_{10-(x+y)}Br_{(x+y)}O$ . Součet hodnot proměnných  $x$  a  $y$  nabývá hodnot jedna až deset. Strukturní vzorec polybromovaných difenyletherů je znázorněn na obrázku č. 6.



**Obrázek 6: Strukturní vzorec polybromovaných difenyletherů**

Teoreticky může vzniknout až 209 kongenerů, které se navzájem odlišují polohou a počtem atomů bromu. Pro pojmenování a číslování kongenerů je používána nomenklatura IUPAC, která je shodná s nomenklaturou pro polychlorované nebo polybromované bifenyly. V tabulce č. 1 je zobrazen přehled všech kongenerů, které mohou být teoreticky vytvořeny. Tmavě jsou v této tabulce vyznačeny tzv. majoritní kongenery [1, 3].

I když je počet možných kongenerů tak vysoký, v životním prostředí lze obvykle detekovat asi 20 až 25 kongenerů ve vyšších koncentracích. Další kongenery mohou být přítomny ve vzorcích, v nichž dochází k některým degradačním procesům, např. fotolytické debromaci, biologické debromaci, mikrobiální debromaci v půdě, popřípadě metabolismu probíhajícímu u živočichů. Nejvíce zastoupeným kongenerem v přírodě je BDE-209, což je důsledkem jeho fyzikálně chemických vlastností. Tento kongener má v porovnání s ostatními kongenery silnější afinitu k pevným částicím a je málo těkavý [13, 14].





## 4.2. Fyzikální a chemické vlastnosti PBDE

Distribuce polybromovaných difenyletherů v životním prostředí se odvíjí od jejich vlastností. Polybromované difenyletery patří mezi látky, které se vyznačují značnou odolností vůči působení kyselin a zásad, tepla, světla i oxidačním a redukčním reakcím. Vyskytují se v pevném nebo kapalném skupenství. Tyto kontaminanty jsou charakteristické nízkou rozpustností ve vodě, protože jsou velmi lipofilní. Jejich lipofilita roste s rostoucím počtem atomů bromu ve struktuře molekuly. Nížebromované sloučeniny se v porovnání s výšebromovanými sloučeninami vyznačují lepší rozpustností ve vodě a vyšší těkavostí. To má za následek, že nížebromované difenyletery se častěji vyskytují v atmosféře a ve vodách, zatímco výšebromované difenyletery převažují v sedimentech, půdách a tukových tkáních živočichů. Do tabulky č. 2 jsou shrnuty některé vybrané fyzikální a chemické vlastnosti jednotlivých isomerních skupin polybromovaných difenyletherů [2, 3, 15].

**Tabulka 2: Vybrané fyzikální a chemické vlastnosti PBDE [2]**

PBDE	Sumární vzorec	$M_r$ (g·mol <sup>-1</sup> )	Počet isomerů	Majoritní kongenery
Mono-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> BrO	249,1	3	3
Di-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Br <sub>2</sub> O	328	12	15
Tri-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Br <sub>3</sub> O	407,1	24	28
Tetra-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Br <sub>4</sub> O	485,8	42	47
Penta-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Br <sub>5</sub> O	564,75	46	99, 100, 118
Hexa-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>6</sub> O	643,62	42	153, 154
Hepta-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>3</sub> Br <sub>7</sub> O	722,3	24	183
Okta-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> Br <sub>8</sub> O	801,5	12	–
Nona-BDE	C <sub>12</sub> HBr <sub>9</sub> O	880,4	3	–
Deka-BDE	C <sub>12</sub> Br <sub>10</sub> O	959,2	1	209

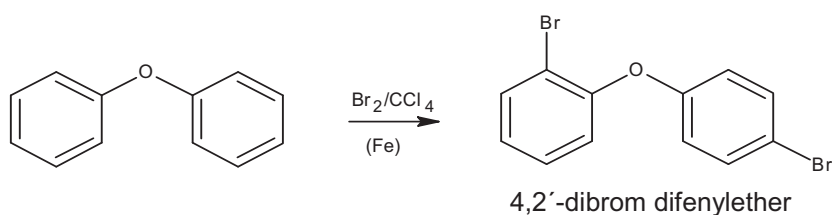
PBDE	Skupenství	Bod tání (°C)	Bod varu (°C)	log K <sub>ow</sub>
Mono-BDE	kapalina	18,72	310	4,28
Di-BDE	pevná látka	60,5	338 – 340	5,03
Tri-BDE	–	–	–	5,47 – 5,58
Tetra-BDE	–	–	–	5,87 – 6,16
Penta-BDE	kapalina	(-7) – (-3)	>300	6,64 – 6,97
Hexa-BDE	–	–	–	6,86 – 7,92
Hepta-BDE	pevná látka	70 – 150	–	–
Okta-BDE	pevná látka	80 – >200	–	8,35 – 8,9
Nona-BDE	–	–	–	–
Deka-BDE	pevná látka	290 – 306	–	9,97

Díky svým lipofilním a perzistentním vlastnostem přetrvávají tyto polutanty ve složkách životního prostředí značnou dobu. Kumulují se především v sedimentech a půdách, protože se zde vážou na pevné částice. Byl prokázán také výskyt těchto kontaminantů v polárních oblastech, což nasvědčuje jejich dálkovému transportu prostřednictvím prachových částic. Polybromované difenyletery byly identifikovány také v některých druzích mořských živočichů, kde se kumulují zejména v tukových tkáních [3].

Během spalovacích procesů mohou z polybromovaných difenyletherů vznikat i nebezpečné a především toxické sloučeniny, např. polybromované dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany. Jejich množství je závislé především na typu PBDE, teplotě spalování, množství kyslíku, popřípadě na použitém polymeru [15].

### 4.3. Výroba PBDE

Jedná se o syntézu probíhající v prostředí nenukleofilního rozpouštědla katalyzovanou železem, přičemž vzniká směs různých izomerů. Při halogenaci aromátu za katalýzy vhodného kovu (Fe, Zn) vzniká během reakce Lewisova kyselina a bromidový kation, který se aduje na aromatické jádro jako první. Následně dochází i k navázání bromidového anionu a vzniku disubstituovaného jádra [1, 34].



**Obrázek 7: Bromace difenyletheru [1]**

### 4.4. Použití PBDE

Polybromované difenylethery jsou vyráběny jako komerční směsi, které se liší nejen svým složením, ale také použitím. Obvyklé složení těchto vyráběných směsí je prezentováno v tabulce č. 3 [1, 15].

**Tabulka 3: Složení komerčních směsí PBDE [15]**

PBDE	Komerční směs		
	PeBDE	OBDE	DeBDE
Tri-BDE	0 – 1 %		
Tetra-BDE	24 – 38 %		
Penta-BDE	50 – 62 %		
Hexa-BDE	4 – 8 %	10 – 12 %	
Hepta-BDE		43 – 44 %	
Okta-BDE		31 – 35 %	
Nona-BDE		9 – 11 %	0,3 – 3 %
Deka-BDE		0 – 1 %	97 – 98 %

#### 4.4.1. DeBDE

Komerční směs DeBDE je tvořena z 97-98 % deka-BDE, zbytek tvoří jiné sloučeniny, nejčastěji nona-BDE. DeBDE je sypký prášek, který nezapáchá a má krémově bílou barvu. Vyznačuje se především tepelnou stabilitou a nereaktivností; proto se používá jako aditivní retardér hoření [1, 15].

Technická směs je vyráběna pod mnoha obchodními jmény. V této souvislosti lze uvést například Bromkal 81, Bromkal 83-10 DE, FR-300 BA a Saytex 102 [15].

Byly prováděny studie zkoumající degradaci směsi obsahující DeBDE. Bylo prokázáno, že dochází k fotodegradaci v organických rozpouštědlech (např. hexanu, xylenu), během které vznikají převážně tri- až okta-BDE. Během prováděných analýz byly rovněž

detekovány polybromované dibenzofurany, které pravděpodobně vznikly v rámci degradace [3, 15].

Směs DeBDE se používá do termoplastů a termosetů, dále je součástí různých lepidel, nátěrových hmot a také textilií. Hlavní uplatnění nachází například v tzv. „high impact“ polystyrenu, akrylonitril-butadien-styrenových pryžích, epoxidových a polyesterových pryskyřicích, v polyvinylchloridu nebo nylonu. Koncentrace DeBDE v jednotlivých polymerech se liší, obvykle se pohybuje v rozmezí 6 – 22 % [1, 15].

#### 4.4.2. OBDE

Sloučenina prodávaná komerčně jako OBDE je tvořena hexa- až nona-BDE, avšak obsahuje také malé množství deka-BDE. Bývá vyráběna pod obchodními názvy Bromkal 79-8 DE, DE 79 nebo Tardex 80. Je součástí akrylonitril-butadien-styrenu (ABS), který se používá na výrobu počítačových a kancelářských zařízení [15].

Některé komponenty této směsi byly identifikovány rovněž v sedimentech a v tukových tkáních, penta- a hexa-BDE se naopak vyskytovaly převážně v biotě. Obecně však tato směs vykazuje nízký bioakumulační faktor.

#### 4.4.3. PeBDE

Směs obsahující PeBDE je vyráběna pod obchodními jmény Bromkal 70, DE 71, Pentabromprop nebo Bromkal 70-5 DE. Hlavními složkami PeBDE jsou tri- až hexa-BDE, avšak v některých produktech byly obsaženy také hepta-BDE. Výskyt této směsi polybromovaných difenyletherů byl prokázán v biotě a v sedimentech a předpokládá se, že jsou bioakumulativní [15].

Tato směs je používána zejména jako aditivní retardér hoření v epoxidových a fenolových pryskyřicích a je součástí polyurethanů, polyesterů a textilií [5].

Jak již bylo výše uvedeno, tyto látky jsou aplikovány v mnoha průmyslových odvětvích a jejich produktech. Hlavní aplikací jsou především plastové výrobky (počítačová a kancelářská technika, televizory, domácí spotřebiče), drátové a kabelové izolace, desky plošných spojů, lepidla, nátěrové hmoty, textilie a mnoho dalších.

V srpnu 2004 byla v Evropě zakázána produkce výrobků obsahujících koncentrace technických směsí PeBDE a OBDE vyšší než 0,1 hmot. %. Tento zákaz byl v červenci 2008 rozšířen také na elektrické a elektronické produkty obsahující DeBDE. Na čtvrtém setkání v květnu 2009 byly na konferenci smluvních stran přijaty změny příloh A, B a C Stockholmské úmluvy. Na seznam perzistentních organických znečišťujících látek bylo přidáno devět nových polutantů, mezi nimi také tetra- a pentaBDE (komerční směs PeBDE) a hexa- a heptaBDE (komerční směs OBDE) [8, 16, 17].

### 4.5. Zdroje PBDE v životním prostředí

Xenobiotika vstupující do životního prostředí se šíří jednotlivými složkami životního prostředí v závislosti na svých fyzikálně chemických a environmentálních vlastnostech. Koloběh polutantů začíná od zdrojů kontaminace. V případě polybromovaných difenyletherů jsou rozlišovány dva druhy zdrojů kontaminace, primární a sekundární. Primárními zdroji kontaminace jsou chápána ta místa, kde se vyrábějí polybromované difenylethery a výrobky, které PBDE obsahují. Jednotlivé produkty obsahující tyto chemické sloučeniny patří rovněž mezi primární kontaminanty životního prostředí. K sekundární kontaminaci dochází uvolňováním znečišťujících látek do prostředí, např. při spalování produktů obsahujících PBDE ve spalovnách, při požárech nebo po uložení produktů na tzv. černou skládku, ze které mohou výše specifikované polutanty uniknout jako součást emisí nebo výluhů. Dalšími

zdroji kontaminace mohou být také místa, kde dochází k shromažďování a likvidaci elektroodpadů [3].

Polybromované difenylethery nejsou pouze antropogenního původu. Bylo prokázáno, že některé metabolity polybromovaných difenyletherů jsou produkovány také živými organismy. Bylo zjištěno, že mořské organismy obsahující homoperoxidázové enzymy mohou produkovat vysoce bromované metabolity i z nízkých koncentrací bromidů vyskytujících se v mořské vodě. Původcem methoxylovaných polybromovaných difenyletherů mohou být také některé houby [3].

Marsch se svými spolupracovníky sledovali obsah methoxylovaných (MeO-PBDE) a hydroxylovaných polybromovaných difenyletherů (OH-PBDE) v krvi lososů obecných, kteří byli odloveni v Baltském moři. V jejich krvi bylo identifikováno celkem devět OH-PBDE a šest MeO-PBDE, které ve své struktuře obsahovaly čtyři nebo pět atomů bromu. Pět polutantů z této skupiny obsahovalo také jeden atom chloru. Téměř ve všech strukturách byla hydroxylová nebo methoxylová skupina navázána v ortho poloze vůči etherové vazbě. Na základě struktury těchto látek autoři publikace usoudili, že identifikované sloučeniny jsou spíše přírodního původu; pouze jednu hydroxylovanou strukturu označili jako možný metabolit BDE-47 [18, 19].

#### 4.6. Osud PBDE v životním prostředí

Ačkoliv bylo použití některých kontaminantů ze skupiny PBDE již zakázáno, nutno konstatovat, že jsou stále všudypřítomné. Vzhledem k tomu, že jsou polybromované difenylethery používány jako aditivní retardéry hoření, jsou postupně uvolňovány z výrobků a odpadů. V posledních letech narůstá jejich koncentrace nejen v sedimentech a biotě. Proto je nezbytné, aby byl jejich výskyt sledován rovněž ve tkáních člověka a tělních tekutinách, především u malých dětí, které je nutné zařadit mezi rizikové skupiny [5].

Jak již bylo výše zmíněno, osud kontaminantu v životním prostředí je ovlivněn jeho fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Důležitými vlastnostmi jsou v tomto případě počet a poloha atomů bromu ve struktuře difenyletheru. Vzhledem k lepší rozpustnosti ve vodě a vyšší těkavosti se nížebromované sloučeniny vyskytují více ve vodním ekosystému a v atmosféře. Výšebromované difenylethery jsou naopak dominantní v půdách a také v sedimentech. Jejich výskyt byl rovněž potvrzen v tukových tkáních některých živočichů [15].

Perzistence polybromovaných difenyletherů v životním prostředí je vysoká. Podle názorů některých odborníků degradují polybromované difenylethery v životním prostředí mnohem lépe než např. polychlorované bifenyly. To je pravděpodobně způsobeno tím, že vazba mezi bromem a uhlíkem je v porovnání s vazbou mezi chlorem a uhlíkem mnohem slabší [3].

Studie prováděná za účelem sledování atmosférické degradace polybromovaných difenyletherů naznačila, že mono- a di- BDE jsou degradovány působením hydroxylových radikálů. Naproti tomu tri- až hexa- BDE podléhají fotolytickému působení, pokud se vyskytují v plynné fázi. K odstraňování deka- BDE z atmosféry dochází převážně mokrou depozicí. V případě, že je delší doba období bez srážek, váže se BDE-209 na prachové částice a působením silných větrů mohou být tyto částice transportovány na velmi dlouhé vzdálenosti. Nížebromované difenylethery se při nízkých teplotách váží na částice ve vzduchu, čímž je značně omezena jejich fotodegradace [20, 21, 22].

Sledováním dálkového transportu polybromovaných difenyletherů a polychlorovaných bifenyly se zabýval Ter Schure a kol. Ve vzorcích odebraného vzduchu a deponovaných částic z ostrova v Baltském moři byly detekovány PBDE i PCB. V plynné fázi byly identifikovány především polychlorované bifenyly, zatímco polybromované difenylethery byly

prokázány zejména v prachových částicích. Celkem bylo detekováno deset kongenerů polybromovaných difenyletherů, přičemž dominantním byl kongener BDE-209; následovaly kongenery BDE-47 a BDE-99. Výsledky této i další studie naznačují, že zatímco koncentrace PCB vykazuje klesající trend, koncentrace PBDE naopak stále vzrůstá [19, 23].

Závěry prezentované v rámci některých dalších studií upozorňují na zvýšenou koncentraci polybromovaných difenyletherů v prachu pocházejícím zejména z domácností a také v prachu z automobilů. Hlavním kontaminantem prachových částic je BDE-209, který je charakteristický svoji silnější afinitou k pevným částicím. Nutno upozornit především na tu skutečnost, že kontaminovaným prachem z domácího prostředí mohou být exponována především batolata, která se pohybují po zemi a přicházejí s prachem nejčastěji do přímého kontaktu. V automobilovém prachu byla v porovnání s prachem z domácností zjištěna mnohem vyšší koncentrace ostatních polybromovaných difenyletherů [14, 24].

Některé studie naznačily, že polybromované difenyletery mohou podléhat dálkovému transportu. Ve vzorcích odebraných v polárních oblastech byl prokázán výskyt di- až hepta-BDE. Kontaminanty byly prokázány nejen v abiotických (půda, voda, vzduch, mechy, sedimenty), ale především v biotických složkách životního prostředí (zooplankton, bezobratlí, ryby, ptáci a někteří savci). V těchto vzorcích byly detekovány také hexabromcyklododekan, polybromované bifenyly a tetrabrombisfenol A. Z uvedených studií rovněž vyplynulo, že evropské polární oblasti vykazují vyšší stupeň kontaminace než polární oblasti v Severní Americe. Podobný trend byl potvrzen rovněž pro organochlorované polutanty. Kontaminace těchto oblastí nebezpečnými organohalogenovanými polutanty pochází především z východní části Severní Ameriky a západní a centrální Evropy. U některých nížebromovaných difenyletherů byla rovněž sledována bioakumulace, která byla prokázána např. pro BDE-47 a BDE-153 [11].

Výsledky sledování úrovně kontaminace živočišných druhů polybromovanými difenyletery ukazují na to, že suchozemské organismy mohou být více exponovány výšebromovanými difenyletery, zejména v porovnání s mořskými organismy. K těmto závěrům dospěli ve své studii také Herzke a kol. [19, 25].

## 5. STANOVENÍ PBDE VE SLOŽKÁCH ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

V posledních letech roste potřeba sledovat úroveň kontaminace jednotlivých složek životního prostředí nebezpečnými polutanty na bázi organických sloučenin. Tato diplomová práce byla zaměřena na stanovení polybromovaných retardérů hoření v hydrosféře a pedosféře. Polybromované difenylethery se již bohužel staly součástí potravního řetězce, a proto je naprosto nezbytné sledovat úroveň kontaminace těmito polutanty. Přítomnost PBDE se sleduje nejen v půdě, sedimentech, ve vodách, ale také v prachu z domácností, kanceláří nebo automobilů, v potravinách, případně v pracovních prostorech.

Pro analýzu polybromovaných difenyletherů jsou často používány stejné postupy jako pro stanovení jiných perzistentních organických polutantů, např. polychlorovaných bifenyly, organochlorovaných pesticidů nebo polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů a dibenzofuranů. Jako standardizované metody pro stanovení polybromovaných difenyletherů jsou používány metody ISO 22032:2006 a U.S. EPA Method 1614:2007.

### 5.1. Odběr vzorků

Velmi důležitým krokem pro přesné a správné stanovení určitého polutantu je správný odběr vzorku. Špatně provedený odběr vzorku může negativně ovlivnit výsledek celé analýzy. V literatuře se uvádí, že špatně provedený odběr může tvořit až 90 % podíl na nejistotě výsledku. Proto je velmi důležité, aby byly vzorky odebrány pečlivě, a to podle navrženého plánu vzorkování. Rovněž musí být dodržena určitá pravidla vzorkování, a to striktně podle systému QA/QC.

#### 5.1.1. Voda

Voda je heterogenní systém proměnlivý v prostoru i v čase. Stojaté a tekoucí vody se liší v některých vlastnostech, a proto i postupy odběru mají svá specifika. Pro stojaté vody jsou obvykle voleny manuální vzorkovače, zatímco pro tekoucí vody jsou vhodnější vzorkovače automatické. Pro odběr reprezentativního vzorku je nutné, aby byla voda odebrána vhodným odběrovým zařízením a současně aby reprezentovala místo a dobu odběru vzorku. Správné uchování a převoz vzorku jsou také důležité. Nedodržení správných podmínek může mít rovněž negativní dopad na generaci přesných a správných výsledků [26].

Směsným vzorkem je charakterizován odběr takového množství vzorku, který po analýze poskytne hodnotu průměrné koncentrace kontaminantu za určitou časovou jednotku. Tento typ vzorku je typický zejména pro odběr odpadních vod. Analýzou několika vzorků odebraných z dané oblasti lze získat informace o distribuci polutantu v celém vzorkovaném objemu. V takových případech bývají vzorky odebírány na různých místech, popřípadě v různých hloubkách, a to v závislosti na povaze vzorkované oblasti. Odebíráme-li vzorky tekoucí vody, je lepší provádět odběr ve středu toku, aby nedocházelo ke zvržení sedimentů. S ohledem na stratifikaci stojatých vod je vhodnější odebírat vodu z větších hloubek [26].

Po každém provedeném odběru je nutné vzorek označit a vyplnit protokol o odběru, který obsahuje základní popis daného vzorku. Tím se rozumí typ a druh vzorku, místo odběru, datum a čas odběru, způsob odběru, účel odběru, označení vzorkovnice, teplota vody a vzduchu při odběru, hodnota průtoku nebo vodní stav.

#### 5.1.2. Půda

Půda je charakterizována jako tenká vrstva na zemském povrchu, která se vytvářela zvětráváním hornin a působením půdotvorných činitelů. Půdotvorný proces je velmi dlouhý a složitý děj. Vlastnosti půdy jsou ovlivněny především půdotvornými činiteli, tj. geologickým

substrátem, reliéfem terénu, klimatem, biotou, časem a především působením lidské činnosti. Půda patří mezi abiotické složky životního prostředí a je tvořena pevnou složkou, půdním vzduchem a půdní vodou, tj. vlhkostí. U půdy je však nezbytné počítat, a to zejména při distribuci organických lipofilních kontaminantů, eventuálně při degradaci, také s biotickou složkou reprezentovanou mikroflorou a mikrofaunou [26].

Při vzorkování půdy je nezbytné zohlednit fyzikální, chemické, biologické a také radiologické vlastnosti vzorkované půdy. Plán vzorkování by měl obsahovat vzorkovací schéma v dané lokalitě, typ vzorku, techniku vzorkování, hloubku odběru, hmotnost vzorku, čas odběru, balení, uchování a podmínky přepravy. Obvykle je odebrán směsný vzorek půdy, který reprezentuje vzorkovanou oblast [26].

## 5.2. Příprava vzorku

Příprava vzorku k analýze je časově nejnáročnější a nejpracnější část analýzy vzorků. Izolace analytů z matrice se provádí nejčastěji extrakcí. Extrakcí se zjišťované analyty převedou z matrice, která může být převážně v kapalně nebo v pevné formě, do vhodného rozpouštědla, popřípadě do směsi rozpouštědel. Přejít částice z tuhé do kapalné fáze, případně mezi dvěma vzájemně nemísitelnými kapalnými fázemi, je způsoben interakcí molekul rozpouštědla s molekulami rozpouštěné nebo extrahované látky. Volba vhodného rozpouštědla je závislá na charakteru těchto interakcí. Při rozpouštění nepolárních látek v nepolárních rozpouštědlech jsou přednostně uplatňovány slabé disperzní síly. Dipól – dipólové interakce způsobují zase orientaci molekul rozpouštědla v prostoru. Tyto přitažlivé síly mezi molekulami rozpouštědla musí rozpouštěná látka překonat. Velmi silné interakce se uplatňují zejména při tvorbě vodíkových můstků [27, 28].

Výběr vhodné extrakční metody je ovlivněn povahou analyzovaného vzorku. Pro analýzu polybromovaných difenyletherů ve vzorcích vody je ve většině případů používána extrakce kapalina – kapalina. Je však zapotřebí velkého množství vzorku, neboť koncentrace sledovaných analytů ve vodě je obvykle velmi nízká. Pro stanovení polybromovaných retardérů hoření v půdě nebo v sedimentu je možno vesměs použít některou z následujících extrakčních technik. Soxhletova extrakce je standardizovaná metoda vhodná pro extrakci všech těchto polutantů, avšak vzhledem k její značné časové náročnosti a vysoké spotřebě organických rozpouštědel bývá často nahrazována jinými postupy. V mnoha případech jsou pro stanovení polybromovaných difenyletherů používány tlaková extrakce rozpouštědlem (PSE, ASE), extrakce ultrazvukem (USE), superkritická fluidní extrakce (SFE) nebo extrakce podporovaná mikrovlnným ohřevem (MAE) [28, 29].

Volba vhodného extrakčního rozpouštědla, doba extrakce, teplota a tlak hrají při některých extrakčních postupech důležitou roli, které je nutné zohlednit při optimalizaci zvoleného extrakčního postupu. Pro extrakci polybromovaných difenyletherů jsou velmi často používána rozpouštědla jako dichlormethan, n-hexan, toluen, případně směs rozpouštědel dichlormethan a n-hexan smíchané v poměru 1:1, nebo směsi n-hexanu a acetonu, případně n-hexanu a petroletheru, smíchaných v různých poměrech. Protože se sledované analyty vyskytují ve stopových množstvích, je nutné izolované analyty před finální analýzou vždy optimálním způsobem zakoncentrovat [24, 27, 28].

### 5.2.1. Extrakce kapalina – kapalina

Pro stanovení polybromovaných difenyletherů ve vodách lze použít extrakci kapalinou. Principem metody je rozdělení analytu mezi dvě vzájemně nemísitelné kapaliny, ve kterých mají analyty odlišnou rozpustnost. Podle pravidla „Podobné v podobném se rozpouští“, jsou nepolární látky extrahovány nepolárním nebo mírně polárním rozpouštědlem a naopak [26].

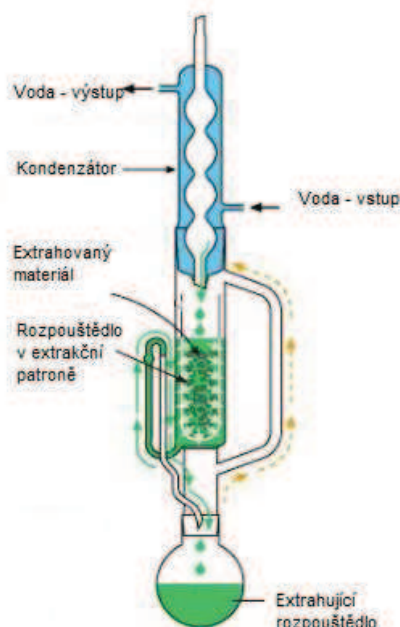


Výhodou této techniky je jednoduchý postup a přístrojové vybavení a použití široké škály rozpouštědel. Pro urychlení přechodu analytů z jedné kapaliny do druhé je využíváno třepání směsí rozpouštědel. Velkou nevýhodou extrakce z kapaliny do kapaliny je především časová náročnost a zejména spotřeba velkých objemů organických rozpouštědel [26].

### 5.2.2. Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakce je vhodnou standardizovanou metodou pro stanovení polybromovaných difenyletherů v půdách. Papírová nebo skleněná extrakční patrona je naplněna vzorkem a umístěna do střední části přístroje. Ve varné baňce je k bodu varu zahříváno extrakční rozpouštědlo, jehož páry stoupají postranní trubicí kolem střední části extraktoru do chladiče, kde kondenzují. Rozpouštědlo potom stéká do extrakční patrony se vzorkem. Střední část přístroje se naplňuje rozpouštědlem do okamžiku, kdy hladina dosáhne úrovně přepadové trubice. Po přetečení veškerého extraktu do varné baňky se celý postup kontinuálně opakuje [26,30].

Velkou nevýhodou Soxhletovy extrakce je její časová náročnost, obvykle 24 hodin, v případě polárnějších rozpouštědel i více. Spotřeba organických rozpouštědel se pohybuje v řádu stovek mililitrů. Soxhletova extrakce je však stále považována za extrakční standard, s nímž jsou vesměs všechny novější techniky porovnávány [28].



**Obrázek 8: Schéma Soxhletova extraktoru [31]**

### 5.2.3. Tlaková extrakce rozpouštědlem (PSE, ASE)

Tlaková extrakce rozpouštědlem (Pressurized Solvent Extraction, PSE) je technika založená na extrakci analytů rozpouštědlem za zvýšeného tlaku (100 – 150 barů) a teploty nad bodem varu použitého rozpouštědla za atmosférického tlaku (50 – 200 °C). Tím je dosaženo rychlejší a účinné extrakce požadovaných analytů ze vzorku, který je v tuhém nebo polotuhém stavu [28].

Pro získání vysoké výtěžnosti extrakce je nutné optimalizovat určité parametry extrakce. Proto je nezbytné použít vhodné rozpouštědlo, popřípadě směs rozpouštědel. Důležité parametry, které obvykle bývají optimalizovány, jsou teplota, tlak, množství a objem použitého rozpouštědla, doba extrakce, počet cyklů extrakce nebo množství vzorku.

Zvýšením teploty mohou být překonány silné interakce mezi roztokem a matricí, které jsou způsobené van der Waalsovými silami, vodíkovými můstky a dipólovými interakcemi, čímž dojde ke snížení energie potřebné pro desorpční procesy. Díky vyšší teplotě se snižuje viskozita rozpouštědla, což vede k lepšímu pronikání rozpouštědla do matrice. Kromě toho dochází při tomto procesu také ke zvýšení difuzní rychlosti a rozpustnosti analytů a ke snížení povrchového napětí rozpouštědla [28].

Aby bylo rozpouštědlo i při vysokých teplotách v kapalném stavu, musí být udržováno za vysokého tlaku. Použitím vyššího tlaku mohou být extrahovány i ty analyty, které jsou uzavřeny v pórech matrice [28].

Optimalizací doby extrakce a počtu extrakčních cyklů lze zvýšit výtěžnost extrakce. Obvykle je lepšími výsledky dosaženo v případě, pokud použijeme kratší dobu extrakce a několik cyklů, a to v porovnání s delší dobou extrakce a jedním cyklem.

Hlavní předností této techniky je rychlost extrakce a nízká spotřeba organických rozpouštědel.

#### **5.2.4. Ultrazvuková extrakce (USE)**

Principem této extrakční techniky je působení ultrazvuku, který způsobuje expanzi a stlačování rozpouštědla. Během extrakce dochází ke vzniku tlaku podporujícího tvorbu bublin a dutin. Ty následně zanikají a v okolí pevné látky vytvářejí proudění kapaliny, která tak lépe proniká do extrahovaného vzorku.

#### **5.2.5. Mikrovlnná extrakce (MAE)**

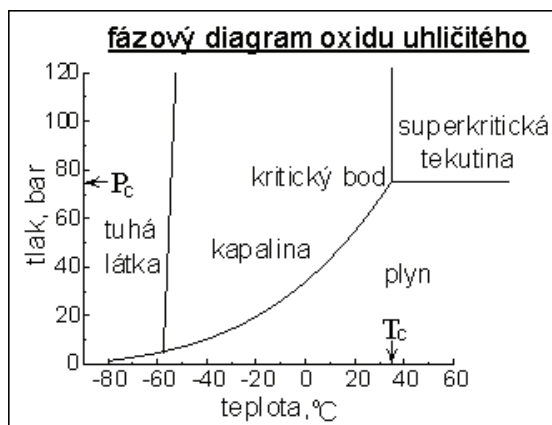
Mikrovlnná extrakce využívá mikrovln k ohřevu extrakčního rozpouštědla, které je v kontaktu se vzorkem. Vzorek je spolu s rozpouštědlem umístěn do uzavřené nádoby, která neabsorbuje mikrovlny. Extrakční rozpouštědlo, které má vysokou dielektrickou konstantu, absorbuje mikrovlny a ohřívá se [28].

Výhody tohoto typu extrakce spočívají v rychlé extrakci, nízké spotřebě extrakčních rozpouštědel a extrakci několika vzorků najednou. Lepší přístroje umožňují extrahovat současně až 15 vzorků najednou.

#### **5.2.6. Superkritická fluidní extrakce (SFE)**

V poslední době je pro stanovení polybromovaných difenyletherů používána superkritická fluidní extrakce. Tato extrakční technika je jednou z moderních technik izolace organických látek z pevných matric. Superkritická fluidní extrakce využívá fyzikálních a chemických vlastností tekutin v superkritickém stavu. Při teplotách a tlacích větších než kritický bod se tekutina nachází v nadkritické oblasti, v níž už nelze rozlišit kapalnou a plynnou fázi. Tekutina v superkritickém stavu se vyznačuje vyšší difuzivitou a nižší viskozitou, což urychluje přestup hmoty a také zkracování doby extrakce. Superkritické fluidum snadno prochází do pórů matrice, a to v důsledku téměř nulového povrchového napětí tekutiny v superkritickém stavu [32].

Obvykle je pro tyto účely používán oxid uhličitý ( $T_K = 31,1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $p_K = 7,38 \text{ MPa}$ ). Jeho přednostmi jsou nízká kritická teplota a tlak, nízká cena a snadná dostupnost; kromě toho je chemicky inertní, netoxický a nehořlavý. Jeho velkou nevýhodou je rovněž nízká polarita, neboť s rostoucí polaritou analytů klesá jejich rozpustnost. Řešením tohoto problému je použití modifikátoru, tj. vhodné polární látky přidávané v malém množství (1 – 5 %) do oxidu uhličitého; pro tyto účely se nejčastěji využívá methanol, ethanol, acetonitril, případně jiné rozpouštědlo [32].



**Obrázek 9: Fázový diagram oxidu uhličitého [33]**

Mezi hlavní výhody této techniky patří kratší doba extrakce, získání čistých extraktů, použití netoxických a levných chemikálií a možnost extrakce tepelně labilních látek. Nevýhodou je však vysoká pořizovací cena a materiálové náklady spojené s použitím vysokého tlaku [32].

### 5.3. Přečištění extraktů

Získané extrakty obvykle obsahují kromě analytů i řadu balastních látek a nečistot. Tyto je nezbytné před finální analýzou odstranit, aby nedocházelo k zanášení lineru a kolon plynového chromatografu. Dále mohou nečistoty zvyšovat intenzitu signálů sledovaných analytů a tak zkreslovat získané výsledky (falešně pozitivní hodnoty).

#### 5.3.1. Adsorpční chromatografie

Sloupcová nebo také kolonová chromatografie je používána pro odstranění nežádoucích složek obsažených v extraktu. Nežádoucí látky, nejčastěji lipidy a pigmenty, jsou selektivně zachycovány sorbentem, kterým je naplněna skleněná kolona. Následně jsou sledované analyty eluovány vhodným elučním činidlem.

Pro stanovení polybromovaných difenyletherů je vhodným sorbentem silikagel, alumina i florisil, v některých případech se doporučuje i použití směsné kolony vytvořené z těchto sorbentů.

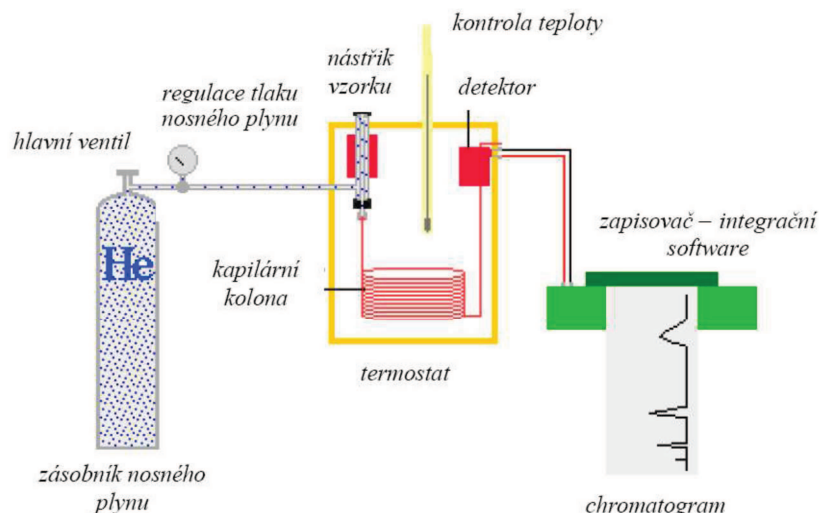
### 5.4. Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je separační technika, která k separaci a finální analýze těkavých látek využívá dvě heterogenní fáze. Stacionární fáze je zakotvená na vnitřní stěně separační kolony, mobilní fáze, která je v plynném stavu, proudí kolonou a zajišťuje přenos analytů separační kolonou. V posledních letech nabývá plynová chromatografie na významu právě díky svým přednostem, kterými jsou rychlá a jednoduchá analýza, účinná separace analytů a potřeba malého množství vzorku k analýze. Plynová chromatografie je významnou analytickou metodou používanou především v petrochemickém, chemickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu. Své uplatnění má však také při analýze kontaminantů přítomných ve složkách životního prostředí [27].

#### 5.4.1. Plynový chromatograf

Schéma jednodimenzionálního plynového chromatografu je znázorněno na obrázku 10. Plynový chromatograf tvoří šest částí: zásobník nosného plynu, zařízení

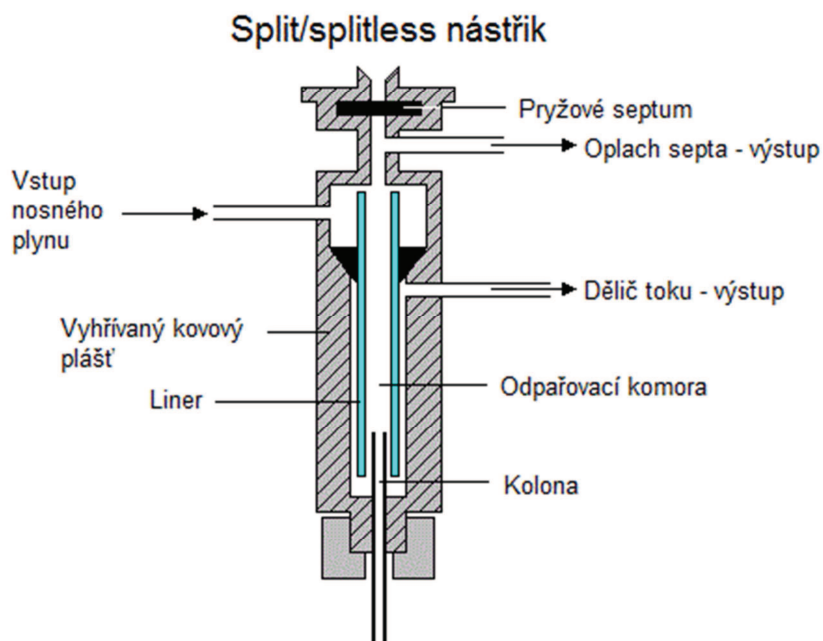
pro regulaci a měření průtoku nosného plynu, injektor, kolona umístěná v termostatu, detektor a zařízení pro vyhodnocení naměřených dat [36].



**Obrázek 10: Schematický náčrt jednodimenzionálního plynového chromatografu [34]**

Zásobníkem nosného plynu je tlaková láhev obsahující vodík, helium, dusík nebo argon. Mezi faktory ovlivňující volbu nosného plynu patří inertnost vůči stacionární fázi a analytům, čistota, viskozita, hustota plynu a bezpečnost při práci. Hustota a viskozita plynu ovlivňují difuzi a průtok plynu kolonou. Pro udržení konstantního průtoku během celé analýzy slouží regulátor průtoku nosného plynu. V některých případech je před regulátor průtoku nosného plynu umístěno *čistící zařízení*, které odstraňuje nežádoucí nečistoty a vlhkost, které mohou být součástí nosného plynu [27, 35, 36].

*Injektor* slouží k zavedení analyzovaného vzorku do proudu nosného plynu, k jeho zplynění a přenosu na kolonu; teplota injektoru je volena tak, aby došlo k rychlému odpaření vzorku a aby nedošlo k případné kondenzaci vzorku na některých částech injektoru (povrch septa, povrch lineru). Ve střední části injektoru je umístěn liner, který slouží k vytvoření chemicky inaktivního prostředí pro vzorek, který je v plynném stavu. Dalším úkolem lineru je homogenizace vzorku a úprava profilu proudění. Vzorek je dávkován mikrodávkořádem, nejčastěji automatickým. *Nástřík vzorku* je uskutečňován několika způsoby. Mezi jedny z nejpoužívanějších technik dávkování vzorku patří děličový nebo bezděličový nástřík. Nástřík s děličem toku (split) je používán pro vzorky, u nichž je předpoklad vysoké koncentrace sledovaného analytu. Odpařený vzorek je smíchán s nosným plynem a pouze definovaný podíl je veden na kolonu. *Bezděličový nástřík (splitless)* je používán tehdy, pokud se předpokládá, že koncentrace sledovaných analytů ve vzorku je velmi nízká. Při použití tohoto typu nástříku je analyzován celý nastříknutý objem vzorku. Dalším typem nástříku je nástřík s programovatelnou teplotou vypařování (PTV). Vzorek je nastříknut do lineru, který je zahříván podle zvoleného teplotního programu. Většina odpařeného rozpouštědla je odfouknuta ventilem, zatímco analyty zůstávají v prostoru lineru. Zvýšením teploty jsou analyty převedeny na kolonu. Výhodou PTV nástříku je možnost nástříku většího objemu vzorku [36, 37].



**Obrázek 11: Schéma split/splitless injektoru [46]**

Důležitou částí chromatografu je separační *kolona*. V současné době jsou většinou používány kapilární kolony, které jsou tvořeny kapilárou z taveného křemene. Ta je potažena vrstvou polyimidu, který jí dodává pružnost a odolnost vůči mechanickému poškození. Dnes používané kapilární kolony jsou dvojího typu; prvním typem jsou kolony s kapalinou zakotvenou na vnitřních stěnách kapilární trubice (typ WCOT), druhým typem kolony s adsorbentem, který je zachycen na vnitřní stěně kapiláry (typ PLOT). Volba stacionární fáze závisí na povaze sledovaných analytů. V současnosti jsou na trhu pouze fáze s vysokou reprodukovatelností a s vysokou tepelnou a chemickou odolností. Obecně platí, že siloxanové fáze jsou tepelně stabilní a v závislosti na složení funkčních skupin makromolekulárního řetězce pokrývají rozsah polarit od nepolárních až po středně polární. Stacionární fáze s vysokou polaritou jsou založeny na polyethylenglykolu [38].

Chromatografická kolona je vždy umístěna v *termostatu*. V přístrojích, dodávaných nyní na trh, jsou aplikovány převážně teplovzdušné termostaty. Po zahřátí je vzduch vháněn do prostoru termostatu, kde jsou kolony umístěny. Ten postupně mění teplotu kolony během analýzy podle zvoleného teplotního programu, který je nutné předem optimalizovat [36].

Nosný plyn protéká *detektorem*, který zaznamenává určitý signál. Jsou-li spolu s nosným plynem přiváděny na detektor také analyty, je zaznamenána změna tohoto signálu. Výsledný signál je zpracován *vyhodnocovacím zařízením* a vyhodnocen v podobě chromatogramu. Pro detekci polybromovaných difenyletherů jsou prioritně používány detektory elektronového záchytu nebo hmotnostní spektrometry [35,36].

## 5.4.2. Detektory

### 5.4.2.1. Detektor elektronového záchytu (ECD)

Princip detektoru elektronového záchytu spočívá ve schopnosti látek vytvořit negativní ion zachycením nízkoenergetického elektronu. Detektor obsahuje  $\beta$  zářič  $^{63}\text{Ni}$  emitující elektrony s energií 67 eV. Ty interagují s molekulami dusíku přiváděného do detektoru jako přídavný plyn za vzniku pomalých (termálních) elektronů, které mohou být

zachyceny analyty obsahujícími ve své molekule elektronegativní atomy, což vyvolá snížení ionizačního proudu. Tento proces je naznačen v rovnici (1) a (2):



Hmotnost těchto anionů je větší než hmotnost elektronů. Důsledkem je pokles intenzity elektrického proudu protékajícího mezi katodou a anodou detektoru, který je úměrný koncentraci analytů [27, 39].

Detektor je tvořen průtokovou ionizační komůrkou se dvěma elektrodami. Zdrojem primárních elektronů je zdroj měkkého záření  $\beta$ , který je umístěn na katodě. Anodu tvoří sběrná elektroda ve formě válečku. Jako radioaktivní zářič bývá nejčastěji používán  $^{63}\text{Ni}$  [27].

Detektor elektronového záchytu poskytuje selektivní odezvu na sloučeniny obsahující ve své struktuře atomy halogenů, dusíku, síry nebo fosforu. Tento detektor je nedestruktivní, velmi citlivý a vysoce selektivní pro analýzu organohalogenových sloučenin, mezi něž polybromované difenylethery patří [40].

#### 5.4.2.2. Hmotnostní spektrometrie

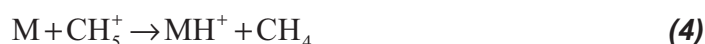
Hmotnostní spektrometrie využívá pro určení hmotnosti iontů působení magnetického, popřípadě elektrického pole. Hmotnostní spektrometr je složen z několika částí, tj. iontového zdroje, analyzátoru, detektoru, vyhodnocovacího zařízení a vakuového systému [41].

*Iontovým zdrojem* jsou vytvářeny ionty z elektricky neutrálních molekul. Při elektronové ionizaci jsou elektrony emitovány žhaveným wolframovým, případně rheniovým vláknem. Tyto elektrony o energii 70 eV ionizují neutrální molekuly, které se nacházejí v plynné fázi. V okamžiku, kdy se elektron přiblíží k neutrální molekule, může být vyražen elektron z elektronového obalu molekuly. Tuto situaci popisuje rovnice:



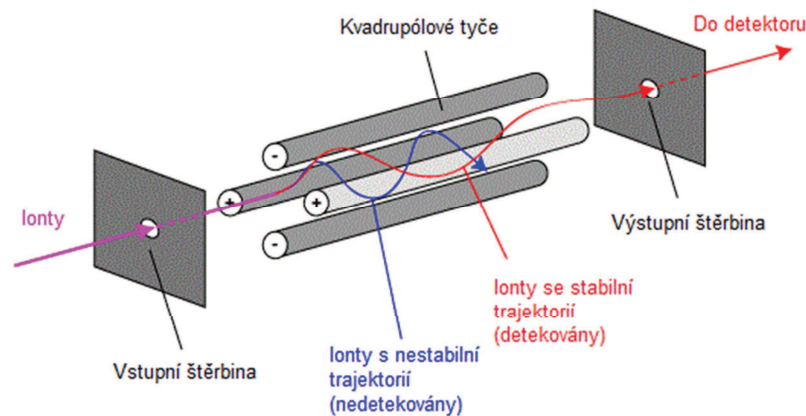
Množství předaného kvanta energie je závislé na charakteru srážky. Tím dochází k fragmentaci ionizované molekuly. Během fragmentace vznikají fragmenty, které jsou obvykle charakteristické pro danou sloučeninu a podle nichž lze sloučeninu identifikovat. Vzhledem k předávané energii patří elektronová ionizace mezi tvrdé ionizační techniky. V mnoha případech je signál molekulového iontu velmi nízký a v důsledku toho je obtížné stanovit relativní molekulovou hmotnost analytu [27, 41].

V porovnání s výše zmíněnou ionizací je při chemické ionizaci přítomen reakční plyn (obvykle methan), který je vzhledem k analytu v nadbytku. Nejprve jsou ionizovány elektrony molekuly reakčního plynu, přičemž vznikají ionty  $\text{CH}_5^+$  a  $\text{C}_2\text{H}_5^+$ , které vyvolávají ionizaci analytů podle rovnic:



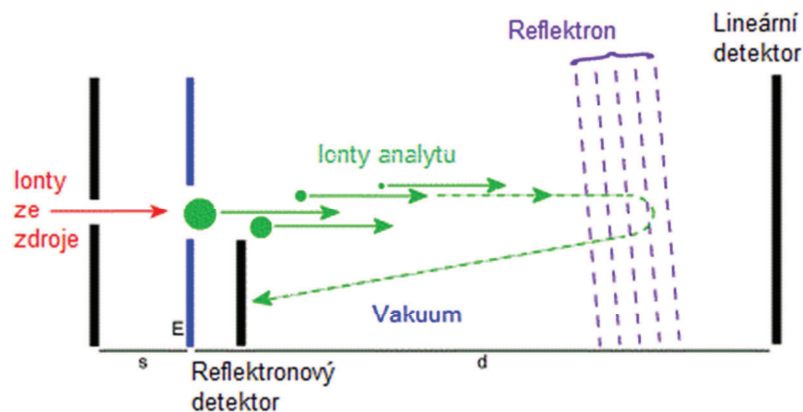
Tato technika je zařazena mezi měkké ionizační techniky, a to díky nižší předávané energii. Její předností je intenzivní signál kvazimolekulového iontu  $\text{MH}^+$ , což umožňuje stanovení relativní molekulové hmotnosti analytu [27, 41].

V *analyzátoru* jsou ionty rozděleny podle poměru jejich hmotností a náboje ( $m/z$ ). Na podkladě fyzikálních principů je rozlišováno několik typů analyzátorů. Často používaným analyzátozem je kvadrupólový analyzátor. Kvadrupól je tvořen čtyřmi tyčemi, z nichž vždy dvě protilehlé jsou elektricky propojeny a je na ně vkládáno střídavé a stejnosměrné napětí. Po vletu iontů do prostoru mezi tyčemi jsou ionty přitahovány a odpuzovány jednotlivými tyčemi. Přitom vykonávají krouživý pohyb směrem k detektoru. V určitém okamžiku má stabilní oscilaci pouze určitý poměr  $m/z$ , který prolétne kvadrupólem a dopadne na detektor. Ostatní ionty s nestabilní oscilací jsou zachyceny na tyčích [41].



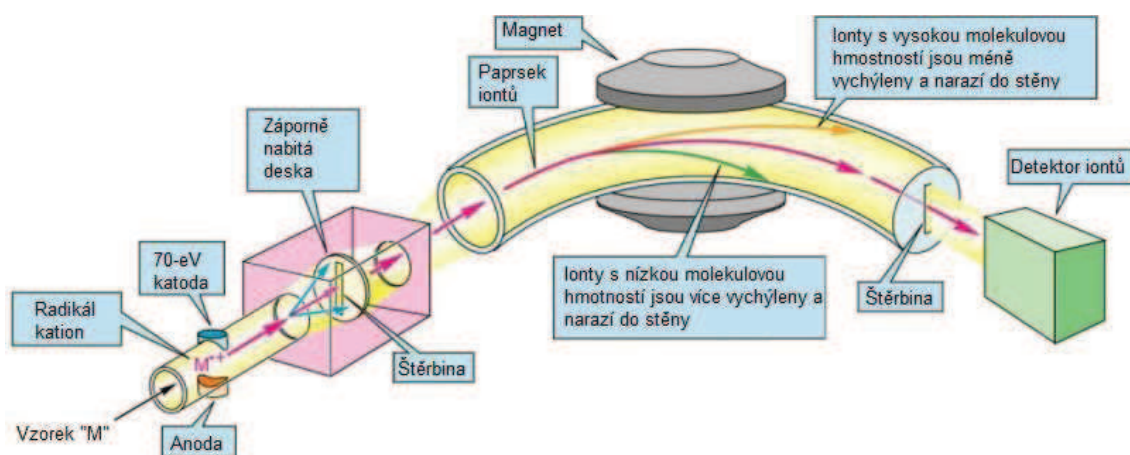
**Obrázek 4: Schéma kvadrupólu [47]**

Princip analyzátoru doby letu (TOF) spočívá v urychlení iontů na stejnou kinetickou energii, průletu iontů evakuovanou letovou trubicí, jejich dopadu na detektor a zjištění hmotnosti těchto iontů na základě doby jejich letu [41].



**Obrázek 5: Schéma analyzátoru doby letu [48]**

Sektorový separátor je tvořen elektromagnetem s pólovými nástavci ve tvaru kruhové výseče. Mezi póly magnetu se nachází zakřivená trubice. Urychlené ionty vstupují do trubice s určitou kinetickou energií. Při vstupu do magnetického sektoru působí kolmo na ionty magnetické pole a jejich dráha se zakřívuje. Ionty opisují dráhu o určitém poloměru v závislosti na své hmotnosti a dopadají na detektor [27].



**Obrázek 6: Schéma sektorového analyzátoru [49]**

Detektor zaznamenává ionty, které opouštějí analyzátor a převádí je na měřitelný signál [41].

K zajištění dostatečného vakua je u hmotnostních spektrometrů obvykle používán dvoustupňový vakuový systém, který je v prvním stupni tvořen rotační olejovou vývěvou a ve druhém stupni buď difúzní vývěvou, nebo turbomolekulárním čerpadlem [41].

#### 5.4.3. Spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS)

Plynová chromatografie poskytuje účinnou separaci analyzovaných látek, zatímco hmotnostní spektrometrie je velmi účinná metoda pro identifikaci analytů. Spojením plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií byla vytvořena zatím nejefektivnější technika pro analýzu složitých směsí organických látek [42].

Propojení plynového chromatografu a hmotnostního spektrometru je v podstatě bezproblémové, neboť průtok nosného plynu kapilární kolonou je relativně nízký. Z tohoto důvodu může být konec kolony umístěn přímo do iontového zdroje, aniž by bylo narušeno vakuum. V případě jeho narušení by došlo ke snížení citlivosti detekce, zhoršení charakteru spekter a ke zkrácení životnosti součástí iontového zdroje. Kapilární kolona vede do iontového zdroje prostorem s vyšší teplotou, než je maximální teplota ohřevu v plynovém chromatografu; vyšší teplota by měla zaručit to, aby nedošlo ke kondenzaci analytů před vstupem do hmotnostního spektrometru [42].

#### 5.4.4. Orthogonální dvojrozměrná plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GCxGC-TOF MS)

Orthogonální dvojrozměrná plynová chromatografie je v posledních letech jednou z nejvýznamnějších technik akceptovaných pro analýzu komplexních směsí volatilních a semivolatilních sloučenin. Tato technika nachází uplatnění především v petrochemickém a potravinářském průmyslu a také v analýze polutantů ve složkách životního prostředí [43, 44].

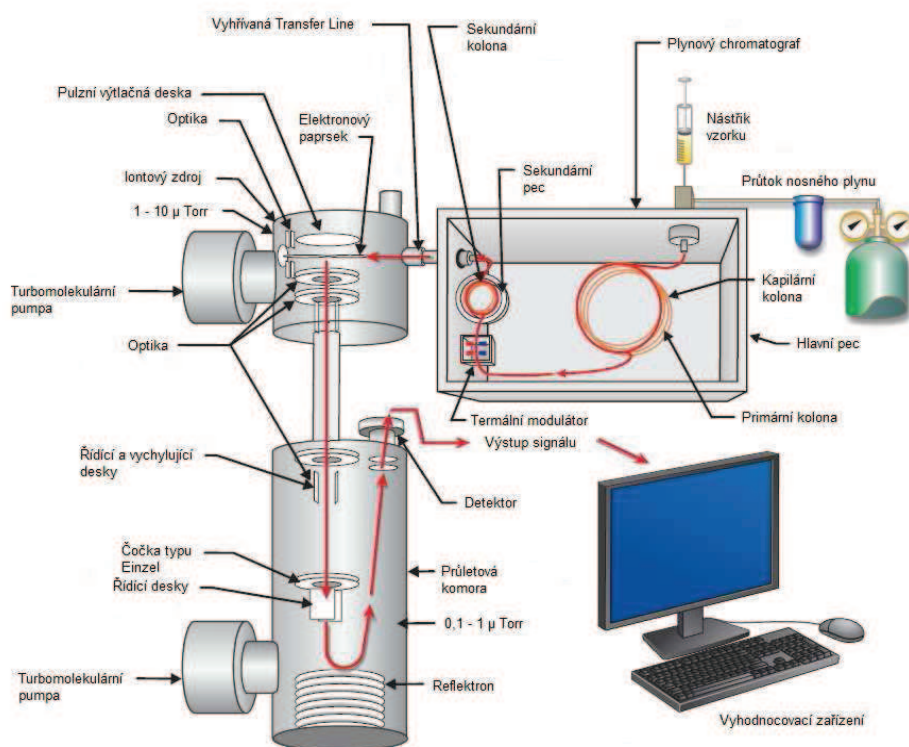
V systému GCxGC je vzorek separován na dvou po sobě následujících kolonách s rozdílnými stacionárními fázemi. Separace v první dimenzi probíhá obvykle na nepolárních kolonách, na kterých se analyty dělí hlavně díky odlišným bodům varu, tj. jako u klasické plynové chromatografie. Obě kolony (primární a sekundární) jsou spojeny modulačním zařízením (tzv. interface), v němž je eluent z první kolony rozdělen na velké množství krátkých úseků, obvykle po 2 – 6 s. Každá frakce je opětovně dávkována na sekundární kolonu (polární stacionární fáze), kde jsou látky dále separovány, avšak jiným mechanismem separace, než který byl použit v první dimenzi. Separace na sekundární koloně je velmi



rychlá, probíhá při izotermních podmínkách a k dělení dochází vlivem interakcí mezi analyty a stacionární fází. Každý pik, který je eluován z primární kolony, je několikrát modulován, což vede k zachování chromatografického rozlišení z první dimenze. Výhodou tohoto uspořádání je, že složky, které nejsou rozděleny v první dimenzi, mohou být rozděleny ve druhé dimenzi [43, 44].

Výstupem je dvourozměrný chromatogram, kde je každá dimenze charakterizována retenčními časy z obou kolon. Jedním ze způsobů vizualizace dvourozměrného chromatogramu je obrysový (vrstevnicový) diagram, v němž jsou píky znázorněny jako skvrny a jejich intenzita je vyjádřena použitím barev a stínů [43].

Hlavními výhodami této techniky je především vysoký stupeň separace látek a vysoká citlivost, která je dána zvýšeným poměrem signál/šum [44].



**Obrázek 7: Schéma ortogonální dvojrozměrné plynové chromatografie s hmotnostní detekcí [50]**

## 6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 6.1. Použité přístroje a zařízení

Plynový chromatograf Agilent Technologies 6890N Series II

- ✓ automatický dávkovač – Agilent Technologies 7683 Series Injector
- ✓ PTV injektor
- ✓ nosný plyn – vodík – vyvíječ vodíku Domnick Hunter 20 H Generator
- ✓ make-up plyn – dusík 4.7
- ✓ detekce – dva <sup>63</sup>Ni mikro-detektory elektronového záchytu (μ-ECD)
- ✓ kolony
  - přední – HT-8 (SGE), 50 m x 220 μm x 0,25 μm, 8% fenyl polycarboransiloxan
  - zadní – DB-17MS (Agilent), 60 m x 250 μm x 0,25 μm, (50% fenyl)-methylpolysiloxan
- ✓ software – HP GC ChemStation Rev. A. 10. 01

Plynový chromatograf Pegasus IV D GCxGC-TOFMS (LECO, USA)

- ✓ primární kolona – Rxi-5Sil MS, 30 m x 250 μm x 0,25 μm, 5% difenyl/95% dimethylarylenpolysiloxan
- ✓ sekundární kolona – BPX-50, 1,5 m x 100 μm x 0,1 μm, 50% difenyl/50% dimethylpolysiloxan
- ✓ nosný plyn – helium 6.0
- ✓ detekce – hmotnostní spektrometr s elektronovou ionizací a analyzátozem doby letu
- ✓ software – ChromaTOF verze 2.32

Vakuová odparka (BÜCHI Laborortechnik AG, Švýcarsko)

- ✓ vodní lázeň Büchi Heating Bath B-490
- ✓ rotační vakuová odparka Büchi Rotavapor R-205
- ✓ elektronické řízení vakua Büchi Vac V-500

Tlakový extraktor onePSE (Applied Separations, USA)

Ultrazvuková lázeň (Teson 4, TESLA, Česká republika)

Přístroj pro zahřívání a sušení vzorků pod proudem dusíku EVATERM (LABICOM s.r.o., Česká republika)

Analytické váhy HR-120 (A&D Instruments, Japonsko)

### 6.2. Použité chemikálie a standardy

Technické plyny

- ✓ dusík 4.7 (SIAD Czech spol. s r.o. Braňany u Mostu)
- ✓ helium 6.0 (SIAD Czech spol. s r.o. Braňany u Mostu)

Chemikálie

- ✓ hexan (Merck, Německo)
- ✓ petrolether (Merck, Německo)
- ✓ dichlormethan (Merck, Německo; J. T. Baker, Nizozemí)
- ✓ aceton (Merck, Německo)
- ✓ isooktan (Merck, Německo)
- ✓ kyselina sírová (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)
- ✓ síran sodný bezvodý (Penta, Česká republika)
- ✓ silikagel (Merck, Německo)
- ✓ florisil (Merck, Německo)
- ✓ hydromatrix (Agilent Technologies)

- ✓ standardní půda Lufa (Speyer, Německo)
- Standardy – směsi PBDE s kongenery BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183 a BDE-209
- ✓ BDE-CSM – směs PBDE ve směsi isooktan:toluen (80:20) (AccuStandard, Inc., USA)
  - ✓ BDE-CM – směs PBDE v isooktanu (AccuStandard, Inc., USA)
  - ✓ M-1614-CM – směs PBDE v isooktanu (AccuStandard, Inc., USA)
  - ✓ M-1614-MS – směs PBDE v isooktanu (AccuStandard, Inc., USA)
  - ✓ PBDE/PCBs in soil – certifikovaný referenční materiál (Fluka, Švýcarsko)

### 6.3. Nastavení přístrojů

Plynový chromatograf Agilent Technologies 6890N Series II

- ✓ množství nastříkovaného vzorku: 2  $\mu\text{l}$
- ✓ teplotní program nástřiku: počáteční teplota 90 °C po dobu 0,1 min, následně zvyšováno rychlostí 720 °C·min<sup>-1</sup> na 350 °C, izoterma 5 min, dále rychlostí 10 °C·min<sup>-1</sup> na 220 °C
- ✓ metoda nástřiku – splitless
- ✓ průtok nosného plynu H<sub>2</sub>: 1,5 ml·min<sup>-1</sup>
- ✓ průtok make-up plynu N<sub>2</sub>: 10 ml·min<sup>-1</sup>
- ✓ teplotní program pece: počáteční teplota 100 °C po 2 min, dále 30 °C·min<sup>-1</sup> na 200 °C izoterma 3 min, pak 3 °C·min<sup>-1</sup> do 230 °C na 15 min, následně 5 °C·min<sup>-1</sup> na 270 °C po dobu 15 min, nakonec rychlostí 10 °C·min<sup>-1</sup> na 310 °C, finální izoterma 25 min
- ✓ celková doba analýzy: 85,33 min
- ✓ teplota detektoru: 300 °C

Plynový chromatograf Pegasus IV D GCxGC-TOFMS

- ✓ nastavení plynového chromatografu
  - množství nastříknutého vzorku: 1  $\mu\text{l}$
  - teplota nástřiku: 280 °C
  - metoda nástřiku: splitless
  - průtok nosného plynu: 1,5 ml·min<sup>-1</sup>
  - teplotní program: počáteční teplota 110 °C po 1 min, dále 45 °C·min<sup>-1</sup> na 270 °C, poté 20 °C·min<sup>-1</sup> na 320 °C, finální izoterma 10 min
  - celková doba analýzy: 17,06 min
  - teplota Transfer Line: 280 °C
- ✓ nastavení hmotnostního spektrometru
  - solvent delay: 300 s
  - rozsah sledovaných molekulových hmotností: 50 – 1000
  - skenovací rychlost: 10 spekter·s<sup>-1</sup>
  - napětí detektoru: 1850 V
  - ionizační energie: -70 eV
  - teplota iontového zdroje: 220 °C

Tlakový extraktor onePSE

- ✓ teplota: 125 °C
- ✓ tlak: 120 barů
- ✓ doba extrakce: 5 min
- ✓ počet cyklů: 2
- ✓ proplach rozpouštědlem: 20 s
- ✓ sušení dusíkem: 2 min

## 6.4. Optimalizace stanovení

### 6.4.1. Optimalizace nastavení přístrojů

Pro účely této diplomové práce byly pro stanovení polybromovaných difenyletherů použity plynové chromatografy lišící se detekcí sledovaných analytů. Po optimalizaci byly vyhodnoceny meze detekce a meze kvantifikace, které byly vzájemně porovnány.

Pro plynový chromatograf s detekcí elektronového záchytu byla převzata metoda, kterou již dříve využíval Ing. Martin Hroch, Ph.D. ve své dizertační práci. Polybromované difenylethery byly vzhledem k lepší separaci a vyšší intenzitě signálu kvantifikovány na koloně DB-17MS [34].

Pro stanovení PBDE na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí se pro nastavení přístroje vycházelo z práce Kazdy a kol., kteří pro svá stanovení používali plynový chromatograf spojený s hmotnostním spektrometrem s analyzátozem doby letu, avšak s chemickou ionizací. Pro tuto práci byl teplotní program kolony nepatrně upraven [45].

### 6.4.2. Optimalizace extrakcí

Polybromované difenylethery byly zjišťovány ve vzorcích půdy. Proto byla pro optimalizaci extrakce analytů použita extrakce ultrazvukem a tlaková extrakce kapalinou.

#### 6.4.2.1. Extrakce ultrazvukem

Optimalizace extrakčních podmínek byla provedena dvěma postupy. V obou případech bylo k 30 g půdy přidáno 100 ng PBDE. Tato půda byla kvantitativně převedena do baňky společně s 60 ml extrakčního rozpouštědla. Poté byla baňka umístěna do ultrazvukové lázně. U dalších postupů se podmínky mírně lišily. Pro první skupinu vzorků byla zvolena doba extrakce 20 minut. K extrakci byly zvoleny dvě směsi rozpouštědel – hexan:petrolether (3:1) a hexan:aceton (3:1). Další skupina byla extrahována po dobu jedné hodiny stejnými extrakčními činidly. Extrakty byly nejprve přefiltrovány přes bezvodý síran sodný a zakoncentrovány na objem přibližně 2 ml. Následně byly extrakty přečištěny sloupcovou chromatografií přes silikagel a florisil.

#### 6.4.2.2. Tlaková extrakce rozpouštědlem

Do 10 g půdy bylo přidáno 100 ng směsi PBDE. Extrakční patrona byla naplněna vzorkem půdy smíchaným s 10 g hydromatrix. Patrona byla umístěna do extraktoru. I v tomto případě byly použity dva různé postupy. Nastavené podmínky extrakce jsou prezentovány v následující tabulce.

**Tabulka 4: Podmínky tlakové extrakce rozpouštědlem pro oba použité postupy**

Parametr	Postup č. 1	Postup č. 2
Teplota	100 °C	125 °C
Tlak	100 barů	120 barů
Doba extrakce	5 min	5 min
Počet cyklů	2	2
Proplach rozpouštědlem	20 s	20 s
Sušení dusíkem	2 min	2 min

V obou postupech byly pro extrakci analytů použity směsi rozpouštědel hexan:dichlormethan (1:1), hexan:aceton (1:1) a hexan:petrolether (9:1). Získané extrakty byly zakoncentrovány a přečištěny sloupcovou chromatografií.

#### **6.4.3. Adsorpční chromatografie**

Kolony byly naplněny hexanem a 3 g florisilu a 3 g silikagelu. Pro optimalizaci bylo na kolonu nanášeno 100 ng směsi PBDE. Jako eluční činidlo byla použita směs rozpouštědel hexanu a dichlormethanu v poměru 3:1. Následně bylo do odpařovacích baněk jímáno pět frakcí po 20 ml. Každá frakce byla odpařena do sucha, rozpuštěna v 1 ml isooktanu a kvantitativně převedena do vialky. Takto získané frakce byly analyzovány.

Po vyhodnocení získaných výsledků byly analyty eluovány 80 ml eluční směsí. Celý objem byl jímán do odpařovací baňky a odpařen do sucha. Následně byly analyty rozpuštěny v 1 ml isooktanu a převedeny do vialky. Poté následovala analýza na plynovém chromatografu.

#### **6.4.4. Kalibrace**

Pro stanovení PBDE ve vzorcích půdy byla vytvořena kalibrační řada, která zahrnovala koncentrace 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000 a 3000 ng.ml<sup>-1</sup>. Kalibrace z matrice zahrnovala stejné koncentrace a byla provedena stejným postupem, který byl použit pro jednotlivé vzorky půdy.

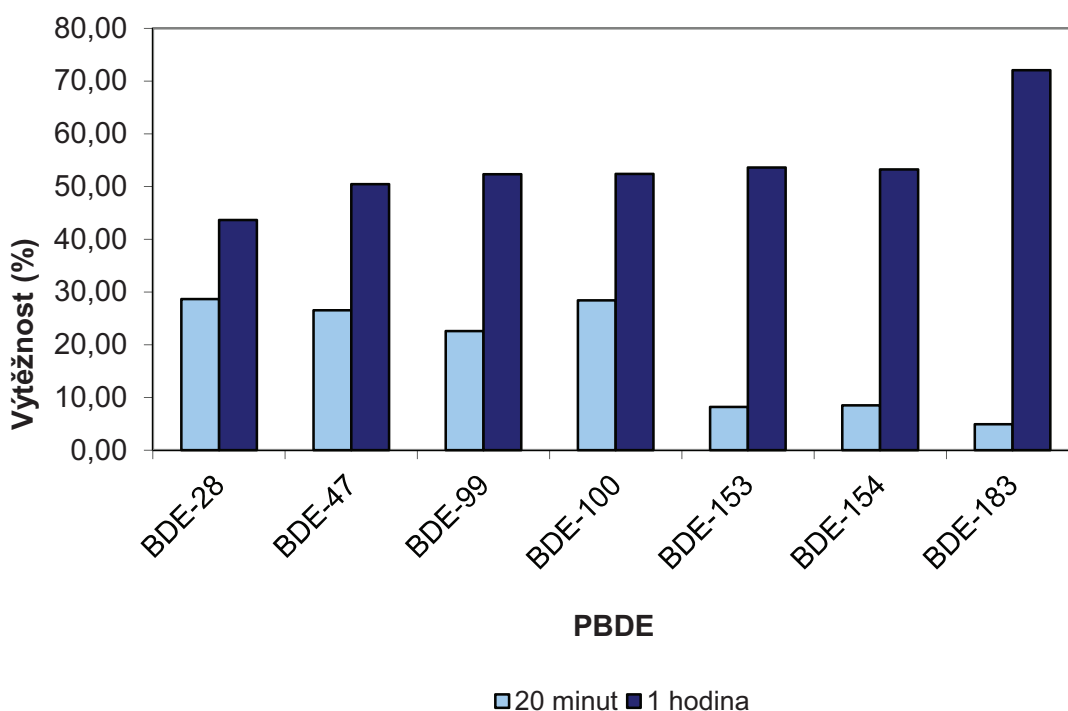
#### **6.4.5. Stanovení sušiny**

Pro stanovení sušiny půdy bylo naváženo 5 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa. Vzorky půdy byly umístěny na čtyři hodiny při teplotě 105 °C do sušárny. Po uplynutí doby sušení byly vzorky převáženy a znovu umístěny do sušárny na 30 minut. Poté byly opět zváženy.

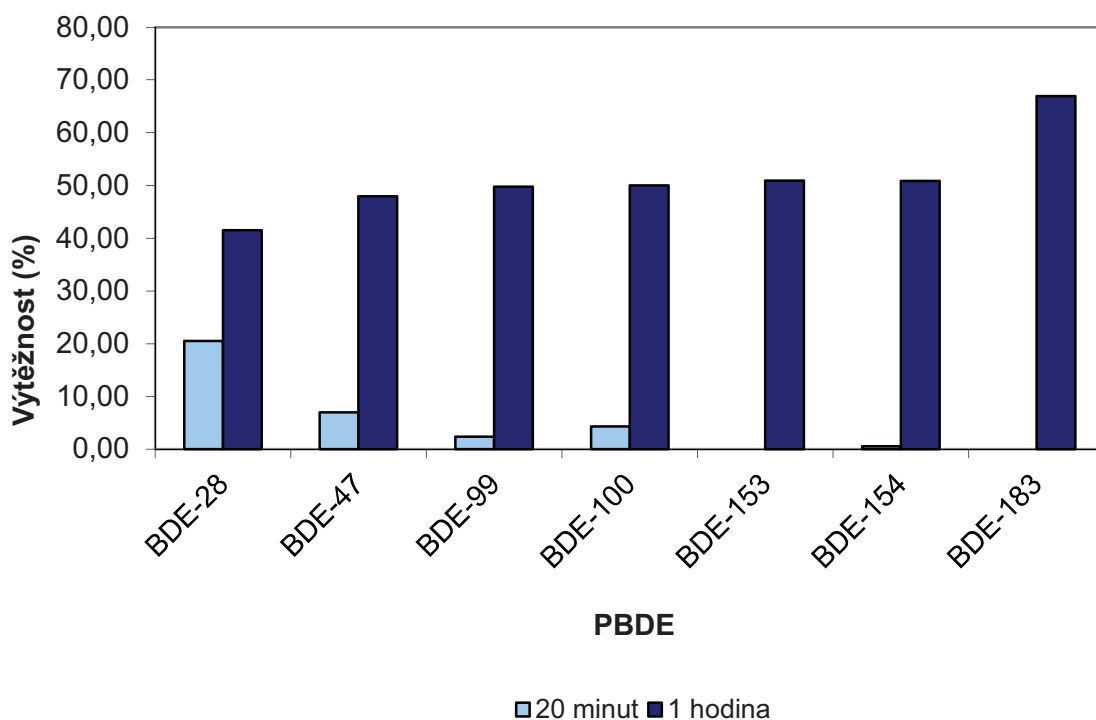
## 7. VÝSLEDKY A DISKUZE

### 7.1. Extrakce ultrazvukem

Optimalizace extrakčních podmínek vycházela ze dvou parametrů extrakce. Prvním byla doba extrakce, která byla zvolena na 20 minut a 1 hodinu. Z výsledků je patrné, že doba extrakce má výrazný vliv na její výtěžnost. Pro přehlednost byly z průměrných hodnot naměřených dat vytvořeny následující grafy, v nichž je zřetelně vidět, že při použití extrakční doby 20 minut bylo dosaženo velmi nízkých hodnot výtěžností, a to jak pro směs rozpouštědel hexan:petrolether (3:1), tak také pro směs hexan:aceton (3:1). Při použití směsi hexan:aceton (3:1) nebyly vůbec detekovány BDE-153 a BDE-183. Po prodloužení doby extrakce na 1 hodinu se výtěžnost pohybovala v rozmezí 40 až 70 %, a to při použití obou extrakčních směsí.

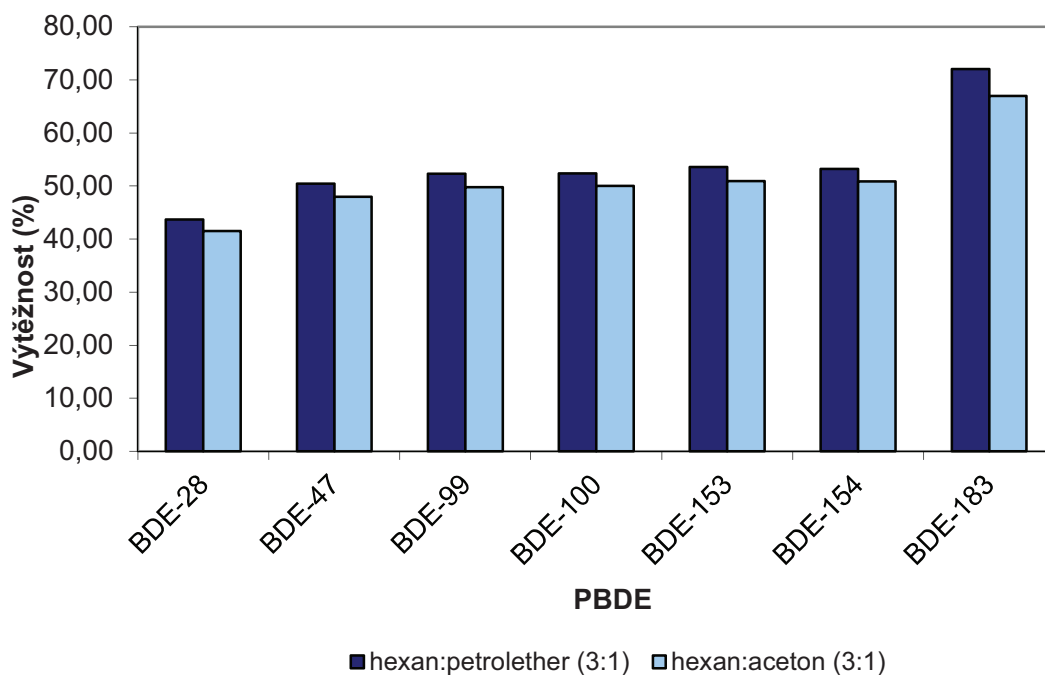


**Graf 1: Porovnání výtěžnosti extrakce ultrazvukem v závislosti na čase pro hexan:petrolether (3:1)**



**Graf 2: Porovnání výtěžností extrakce ultrazvukem v závislosti na čase pro hexan:aceton (3:1)**

Dalším optimalizovaným parametrem extrakce byl výběr nejvhodnějšího extrakčního činidla. Pomocí grafu č. 3 bylo provedeno porovnání vlivu extrakčních směsí na výtěžnost extrakce ultrazvukem po dobu 1 hodiny. Z grafu vyplynulo, že směs hexan:petrolether (3:1) poskytuje jen nepatrně vyšší výtěžnost dané extrakce v porovnání se směsí hexan:aceton (3:1). Tento trend byl pozorován pro všechny sledované PBDE. Z naměřených hodnot vyplývá, že extrakce ultrazvukem neposkytuje dostatečnou extrakční výtěžnost a na podkladě těchto experimentálně ověřených podkladů nebyla extrakce ultrazvukem vybrána pro následnou analýzu reálných vzorků půdy.



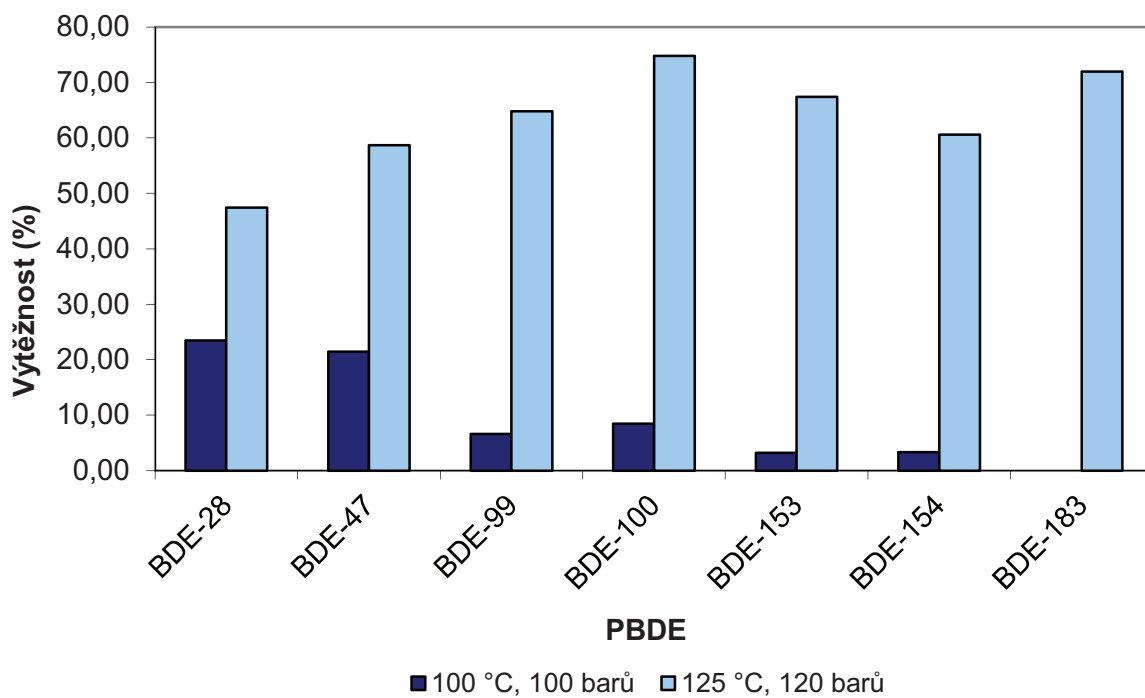
**Graf 3: Porovnání výtěžností extrakce ultrazvukem s různými extrakčními činidly; doba extrakce 1 hodina**

## 7.2. Tlaková extrakce rozpouštědlem

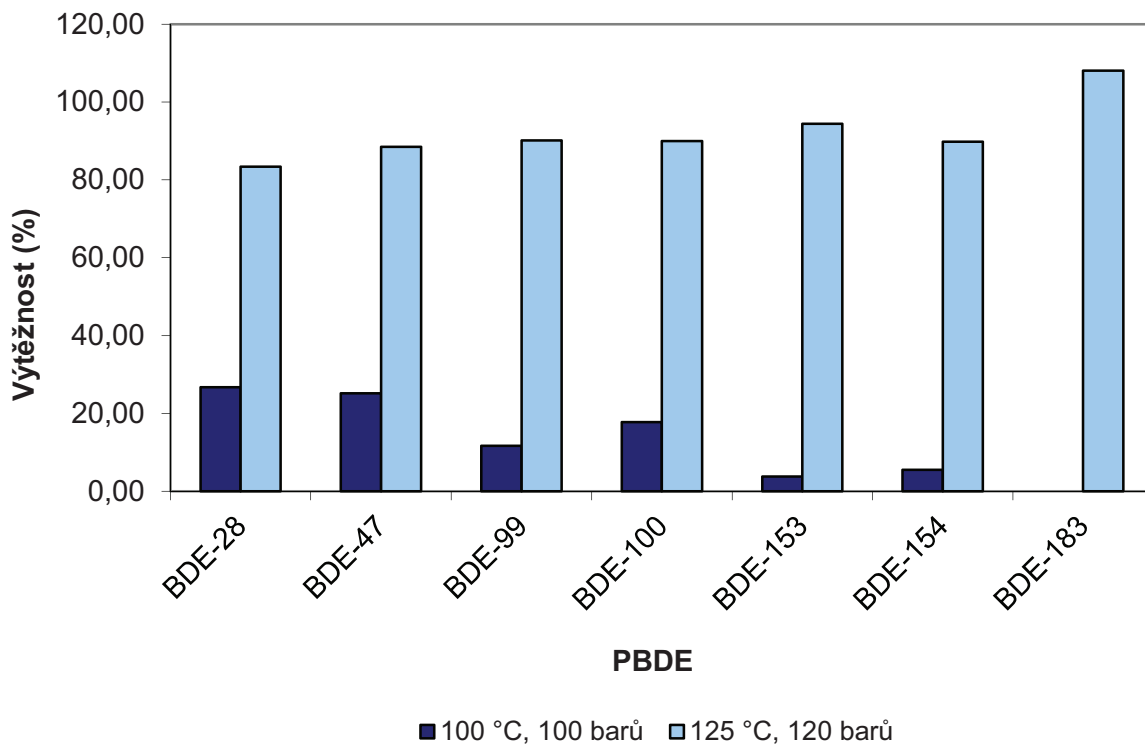
Druhou optimalizovanou extrakční technikou byla tlaková extrakce rozpouštědlem. Výtěžnost extrakce byla hodnocena z hlediska závislosti na nastavených parametrech extrakce a také v závislosti na volbě extrakční směsi. Nastavené podmínky tlakového extraktoru jsou prezentovány v tabulce č. 4.

Z prezentovaných grafů lze odvodit, že zvýšením teploty a tlaku bylo dosaženo zvýšení výtěžnosti extrakce všech analytů. Při teplotě 100 °C a tlaku 100 barů se výtěžnost tlakové extrakce rozpouštědlem pohybovala v rozmezí mezi 0 až 27 %, a to pro všechny směsi rozpouštědel. BDE-183 nebyl extrahován ani jednou z použitých extrakčních směsí. Po zvýšení teploty na 125 °C a tlaku na 120 barů došlo k mnohonásobnému zvýšení výtěžnosti tlakové extrakce pro všechna použitá extrakční činidla.

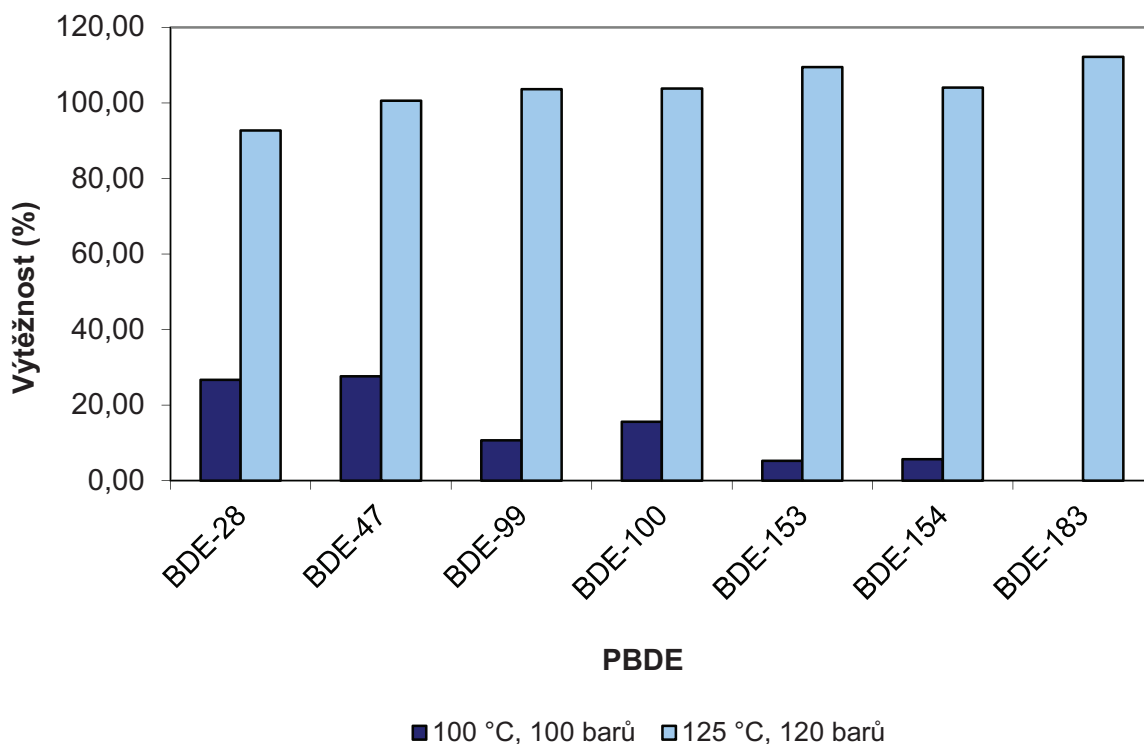




**Graf 4: Porovnání výtěžností tlakové extrakce rozpouštědlem v závislosti na volbě teploty a tlaku pro extrakční směs hexan:acetón (1:1)**



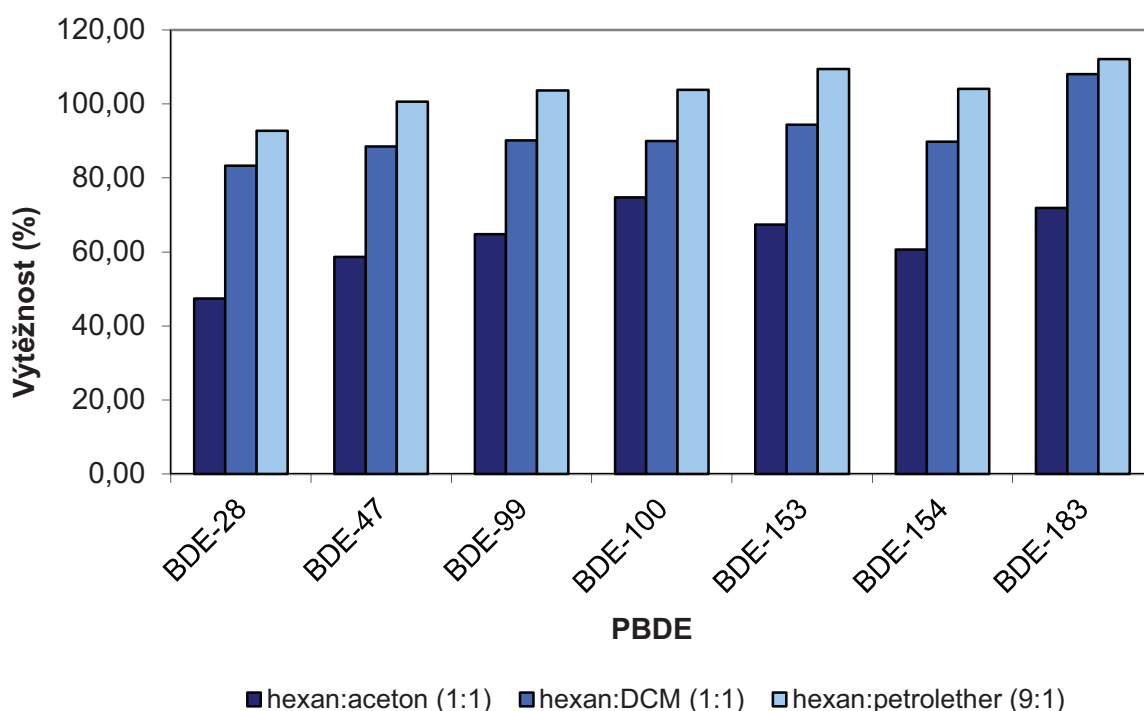
**Graf 5: Porovnání výtěžností tlakové extrakce rozpouštědlem v závislosti na volbě teploty a tlaku pro extrakční směs hexan:DCM (1:1)**



**Graf 6: Porovnání výtěžností tlakové extrakce rozpouštědlem v závislosti na volbě teploty a tlaku pro extrakční směs hexan:petrolether (9:1)**

Hodnocení výtěžností tlakové extrakce rozpouštědlem v závislosti na volbě extrakční směsi rozpouštědel je zpracováno do následujícího grafu, z něhož vyplývá, že nejvyšší extrakční výtěžnosti bylo dosaženo v případě použití směsi hexan a petrolether v poměru 9:1. Použitím této směsi se výtěžnost tlakové extrakce rozpouštědlem pohybovala v rozmezí 92 až 112 %. Směsí hexan:aceton (1:1) byly polybromované difenylethery extrahovány s výtěžností 47 až 72 %, a proto nebyla tato směs dále použita jako vhodná pro analýzu reálných vzorků. Podstatně lepších výsledků bylo dosaženo rovněž při použití směsi hexan:dichlormethan (1:1).

Z výsledků jednoznačně vyplývá, že pro stanovení polybromovaných difenyletherů v reálných vzorcích půdy a pro vytvoření kalibrace z matrice byla jako optimální extrakční technika zvolena tlaková extrakce rozpouštědlem. Teplota a tlak extrakce byly nastaveny na 125 °C a 120 barů a jako extrakční činidlo byla použita směs hexanu a petroletheru v poměru 9:1. Vzhledem k dosaženým výsledkům by mohla být jako extrakční činidlo použita i směs hexanu a dichlormethanu v poměru 1:1.



**Graf 7: Porovnání výtěžností tlakové extrakce rozpouštědlem v závislosti na volbě extrakční směsi při teplotě 125 °C a tlaku 120 barů**

### 7.3. Adsorpční chromatografie

Optimalizovaná byla rovněž metoda použitá pro čištění extraktu. Pro optimalizaci sloupcové chromatografie byla použita směsná kolona obsahující sorbenty florisil a silikagel. Optimalizace byla provedena na kolonách, které se lišily pořadím použitých adsorbentů. Jako eluční činidlo byla použita směs rozpouštědel hexan a dichlormethan v poměru 3:1. Bylo získáno pět frakcí, které byly následně analyzovány na plynovém chromatografu. Bylo zjištěno, že pořadí použitých sorbentů v kolonách nemá vliv na výtěžnost přečištění extraktu. V prvních třech frakcích bylo eluováno v průměru 98 % analytů. Ve čtvrté frakci byly detekovány stopy BDE-28, BDE-47, BDE-99 a BDE-154.

Po zhodnocení získaných výsledků bylo pro další postupy zvoleno jako optimální množství elučního činidla 80 ml.

### 7.4. Kalibrace

V rámci řešení experimentální části práce byla ověřována dvojí kalibrace, a to kalibrace na standardech a také na matici. Jako matrice byla použita přesně definovaná půda Lufa, u které bylo zjištěno, že není kontaminována sledovanými analyty. Kalibrace i kalibrace z matrice byla provedena třikrát pro každou koncentraci a její správnost byla ověřena stanovením koncentračních závislostí optimalizovanou metodou plynové chromatografie. Protože bylo v průběhu optimalizace zjištěno, že matrice vykazuje matriční efekt, byly pro výpočet dále používány pouze matriční kalibrace. Ze získaných výsledků byly sestaveny kalibrační závislosti pro jednotlivé sledované polybromované difenylethery. V následujících tabulkách jsou prezentovány retenční časy analytů, rovnice kalibračních přímek, linearita, limity detekce (LOD) a limity kvantifikace (LOQ); v případě hmotnostní

spektrometrie jsou zde uvedeny také kvantifikační ionty. Hodnoty limitů detekce a limitů kvantifikace byly vypočítány na základě rovnic (6) a (7):

$$\text{LOD} = \frac{3 \cdot h_n}{m} \quad (6)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \cdot h_n}{m} \quad (7)$$

kde  $h_n$  je průměrná výška šumu a  $m$  směrnice kalibrační přímky sestavené z výšek píků.

**Tabulka 1: Základní metrologické parametry pro plynový chromatograf s detekcí elektronového záchytu**

PBDE	retenční čas (min)	rovnice kalibrační přímky	linearita	LOD (ng·ml <sup>-1</sup> )	LOQ (ng·ml <sup>-1</sup> )
BDE-28	26,22	y = 270,19 x	0,9995	0,322	1,073
BDE-47	38,43	y = 272,31x	0,9990	0,320	1,065
BDE-99	47,79	y = 228,45x	0,9992	0,380	1,267
BDE-100	45,52	y = 232,98x	0,9994	0,373	1,245
BDE-153	59,34	y = 265,92x	0,9994	0,327	1,091
BDE-154	55,88	y = 154,62x	0,9990	0,563	1,876
BDE-183	67,11	y = 150,15x	0,9993	0,580	1,932

**Tabulka 2: Základní metrologické parametry pro plynový chromatograf s hmotnostním spektrometrem**

PBDE	retenční čas (s)	kvantifikační ionty	rovnice kalibrační přímky	linearita	LOD (ng·ml <sup>-1</sup> )	LOQ (ng·ml <sup>-1</sup> )
BDE-28	414,9	246	y = 27,001x	0,9979	10,33	34,44
BDE-47	462,0	326	y = 13,177x	0,9979	21,17	70,58
BDE-99	521,7	408	y = 4,4554x	0,9977	62,76	209,2
BDE-100	506,1	408	y = 5,9062x	0,9986	47,24	157,5
BDE-153	601,1	484	y = 1,7390x	0,9990	160,4	534,8
BDE-154	569,7	484	y = 3,0499x	0,9962	91,48	304,9
BDE-183	718,7	526	y = 0,5633x	0,9936	495,3	1650

Jak je zřejmé z výše uvedených tabulek, při použití plynového chromatografu s detekcí elektronového záchytu bylo dosaženo mezí detekce v řádech desetin nanogramů na mililitr, zatímco v případě použití plynového chromatografu s hmotnostní detekcí, a to patrně z důvodů opakované poruchy přístroje, mezí detekce v desítkách až stovkách nanogramů na mililitr. To byl důvod, proč byl následně pro stanovení polybromovaných difenyletherů v reálných vzorcích použit plynový chromatograf s detekcí elektronového záchytu. Zjištěný obsah, vztažený na sušinu, je uveden níže v následujících tabulkách.

## 7.5. Stanovení sušiny půdy

U všech reálných vzorků půdy byla stanovena sušina, na jejímž základě byl proveden výpočet množství analytů přítomného v reálných vzorcích půdy. Získané výsledky jsou zpracovány do následující tabulky.

**Tabulka 3: Stanovení sušiny půdy**

Vzorek půdy	sušina (%)
Sběrný dvůr – Malšice	98,50
Velmovice – požár lesa	95,93
Brandýs – požár paneláku	97,06
Brandýs – Melicharka – krb	95,34
Brandýs – Melicharka – požár skladu	97,98
Radostovice – požár	98,09
Malšice – sběrný dvůr	97,79
Malšice – požár srubu	97,81
Zlín – Areál Svit	97,85
Ludvíkov – požár traktoru	97,89
Karlovice – chvojí	99,08
Heřmanovice – rekreační chata	97,64

## 7.6. Reálné vzorky

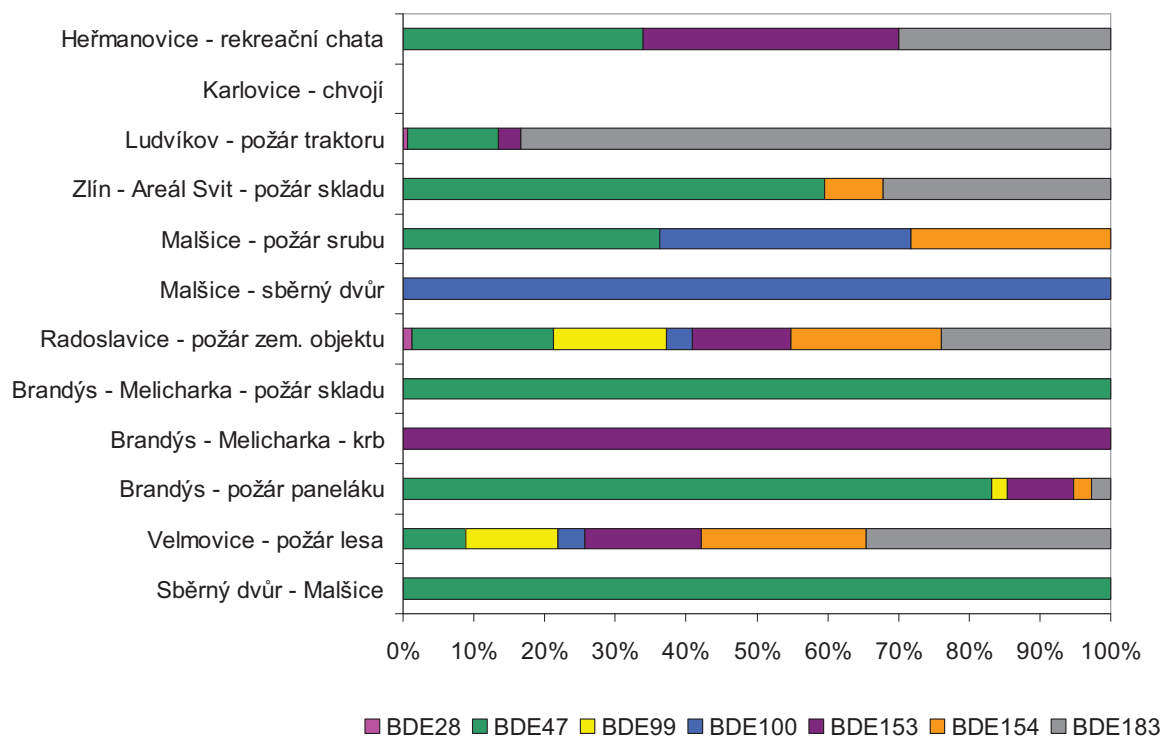
Bylo analyzováno celkem 12 reálných vzorků půdy a standardní referenční materiál. Stanovení bylo pro každý vzorek provedeno třikrát, a proto jsou v následující tabulce prezentovány průměrné hodnoty naměřených dat, převedené na jednotky  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  sušiny. Výsledky jsou souhrnně prezentovány v tabulce 9.

Z uvedené tabulky je zřejmé, že nejvíce byly kontaminovány vzorky půdy odebrané z požářišť v Radostovicích, Velmovicích, Brandýse nad Labem, Zlíně a Ludvíkově. Rovněž bylo prokázáno, že pouze ve vzorku z požáru zemědělského objektu v Radostovicích byly detekovány všechny sledované analyty. Úroveň kontaminace vzorku půdy pocházející z lesního požáru poukazuje na celkovou kontaminaci dané lokality, protože jehličí stromů je v environmentální analýze běžně používáno jako bioindikátor pro hodnocení úrovně kontaminace životního prostředí. Pro porovnání, zda bude při požáru lesa kontaminováno také jehličí, bylo spáleno chvojí odebrané z čisté oblasti Jeseníků. V tomto vzorku spáleného chvojí nebyl detekován žádný sledovaný analyt, což svědčí o kvalitě ovzduší a čistotě životního prostředí v okolí nejvyšší hory Jeseníků. Kontaminace vzorku pocházející z požáru bytu v Brandýse nad Labem je z hlediska detekce jednotlivých kongenerů PBDE rovněž různorodá. Lze předpokládat, že matrice pocházela z vybavení bytu, kde se vyskytovaly sedačky, koberce, televizory a jiné výrobky určené pro domácí potřebu. Při velkém požáru, ke kterému došlo počátkem roku 2013 v areálu bývalého výrobního podniku Svit ve Zlíně, byl zcela zničen sklad elektroniky, který zde byl v této době umístěn. Lze se proto domnívat, že právě z plastových součástí elektroniky mohla pocházet zjištěná kontaminace PBDE. Dále bylo konstatováno, že při požáru v Ludvíkově shořel traktor. Proto se lze domnívat, že kontaminace půdy po požáru mohla pocházet převážně ze sedačky traktoru, případně z plastových součástí.

Ze všech zjištěných hodnot kontaminace reálných vzorků půdy PBDE byl sestrojen graf, který dokumentuje zastoupení jednotlivých kongenerů PBDE v těchto vzorcích. Bylo prokázáno, že nejvíce byly zastoupeny kongenery BDE-47, BDE-153, BDE 154 a BDE-183.

**Tabulka 4: Stanovení PBDE ve vzorcích půdy v  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  sušiny**

Vzorek půdy	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183
Sběrný dvůr – Malšice	<LOQ	0,2457	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.
Velmovice – požár lesa	n.d.	1,010	1,489	0,4525	1,878	2,672	3,962
Brandýs – požár paneláku	n.d.	6,788	0,1803	n.d.	0,757	0,2115	0,2142
Brandýs – Melicharka – krb	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,1498	<LOQ	<LOQ
Brandýs – Melicharka – požár skladu	<LOQ	2,152	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ
Radostovice – požár – zem. objekt	0,1073	1,607	1,305	0,2942	1,124	1,731	1,935
Malšice – sběrný dvůr	n.d.	<LOQ	<LOQ	0,2615	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Malšice – požár srubu	n.d.	0,2341	<LOQ	0,2290	<LOQ	0,1818	<LOQ
Zlín – areál Svit – požár	n.d.	8,150	n.d.	n.d.	<LOQ	1,121	4,395
Ludvíkov – požár traktoru	0,1836	3,478	n.d.	n.d.	0,854	n.d.	22,63
Karlovice – chvojí	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heřmanovice – rekreační chata	n.d.	0,2929	n.d.	n.d.	0,3122	<LOQ	0,2594



**Graf 8: Zastoupení jednotlivých kongenerů v reálných vzorcích půd**

Součástí této diplomové práce bylo také, a to v souladu se systémem QA/QC, ověření optimální metody na základě provedení analýzy certifikovaného referenčního materiálu, který obsahoval polychlorované bifenylly a polybromované difenylethery. Pro účely této práce však byly hodnoceny pouze polybromované difenylethery. V následující tabulce jsou uvedena deklarovaná, akceptovatelná a zjištěná množství sledovaných analytů.

**Tabulka 5: Stanovení PBDE ve standardním referenčním materiálu**

PBDE	stanovené množství ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	deklarované množství ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	akceptovatelné množství ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
BDE-28	n.d.	–	–
BDE-47	308,9	$286 \pm 17,3$	179 – 393
BDE-99	228,1	$173 \pm 8,36$	108 – 238
BDE-100	103,5	$84,8 \pm 5,1$	53 – 117
BDE-153	206,3	$162 \pm 9,85$	102 – 223
BDE-154	276,1	$215 \pm 10,5$	151 – 280
BDE-183	330,6	$253 \pm 13,7$	169 – 337

Z výsledků prezentovaných v této tabulce je zřejmé, že všechny námi zjištěné hodnoty obsahu PBDE se vyskytují v rozmezích akceptovatelných množství, a proto je možné konstatovat, že optimalizovaná metoda je vhodná pro stanovení polybromovaných difenyletherů ve znečištěných vzorcích půdy.

## 8. ZÁVĚR

V rámci předložené diplomové práce byla řešena stále vysoce aktuální problematika hodnocení kontaminace půdy polybromovanými difenylethery. Práce byla rozdělena na část teoretickou a experimentální.

Teoretickou část diplomové práce tvoří literární rešerše, která je zaměřena především na charakteristiku polybromovaných difenyletherů, používaných jako retardéry hoření. V první její části jsou charakterizovány jednotlivé typy retardérů hoření. V další kapitole jsou potom popsány fyzikálně chemické a environmentální vlastnosti PBDE, jejich použití a osud v životním prostředí. Kromě toho jsou zde uvedeny postupy izolace sledovaných analytů z matic, vesměs založené na extrakčních postupech, dále čištění extraktu a jeho zakoncentrování před finální analýzou separačními postupy. Pro stanovení úrovně kontaminace je používána zejména plynová chromatografie s různým způsobem detekce, především s detektorem elektronového záchytu a hmotnostním detektorem.

Praktická část byla orientována na optimalizaci metody pro stanovení PBDE ve vzorcích vody a půdy. Pro extrakci analytů z vody byla zvolena extrakce kapalina – kapalina. Při analýze vody nebyly identifikovány kongenery PBDE, a proto nejsou výsledky zpracovány do tabulek. Pro extrakci analytů z půdy byly použity dvě extrakční techniky. První z nich byla ultrazvuková extrakce, jejíž výtěžnost nebyla dostačující pro další stanovení a nemohla být proto následně aplikována pro analýzu reálných vzorků. Dalším extrakčním postupem pro izolaci PBDE z půdy byla tlaková extrakce rozpouštědlem. Na základě porovnání obou extrakčních postupů můžeme konstatovat, že při použití tlakové extrakce rozpouštědlem bylo dosaženo podstatně lepších výsledků, a proto byla tato metoda zvolena jako optimální pro stanovení PBDE v reálných vzorcích pocházejících z požáříšť.

Při analýze reálných vzorků půdy bylo dosaženo následujících konkrétních výsledků:

- ✓ PBDE byly detekovány téměř ve všech vzorcích;
- ✓ Nejvyšší obsah PBDE, vztážený na sušinu, byl identifikován ve vzorcích pocházejících z požáru lesa ve Velmovicích, dále ze zemědělského objektu v Radostovicích, skladových prostor v Areálu Svit ve Zlíně, v požáru bytu v Brandýse nad Labem a shořelého traktoru z lokality Ludvíkov;
- ✓ Vysoký obsah analytů ve vzorku z požáru lesa lze odůvodnit kumulací polutantů v jehličí stromů. Pro porovnání byl proto použit vzorek popelu chvojí pocházejícího z okolí Pradědu v Jeseníkách. V něm nebyl detekován žádný ze sledovaných analytů. Tyto výsledky současně potvrzují kvalitu ovzduší a čistotu životního prostředí v Jeseníkách;
- ✓ Kontaminace vzorků z požáru skladových prostor ve Zlíně pocházela především z uskladněné elektroniky;
- ✓ Kontaminace vzorků z požáru zemědělského objektu by mohla pocházet z kontaminovaného prachu, plastových součástí a jiného vybavení používaného v zemědělství;
- ✓ Při požáru bytu pochází kontaminace PBDE pravděpodobně ze shořelých sedaček, koberec, popřípadě elektroniky;
- ✓ V lokalitě Ludvíkov v Jeseníkách shořel traktor. V tomto případě se lze domnívat, že kontaminace půdy po požáru mohla pocházet převážně ze shořelé sedačky traktoru, případně z plastových součástí, které byly použity při výrobě traktoru.
- ✓ Analýza certifikovaného referenčního materiálu prokázala, že optimalizovaná metoda použitá pro všechny analýzy odpovídá systému QA/QC.



Výsledky, které byly získány v rámci předložené diplomové práce, potvrdily nutnost stálého sledování difenyletherů, intenzivně využívaných jako retardéry hoření. Důvodem je především to, že jsou stále závažným kontaminantem terestrického ekosystému, i když hladiny jednotlivých kongenerů PBDE nejsou příliš vysoké. Závažná je však především četnost jejich nálezů. Na základě tohoto tvrzení lze doporučit jejich setrvání ve skupině perzistentních organohalogenovaných kontaminantů, které je nutné dále sledovat v abiotických i biotických složkách životního prostředí.

## 9. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] ALAEE, M., ARIAS, P., SJÖDIN, A., BERGMAN, A. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environment International* [online]. 2003, roč. 29, č. 6, s. 683-689 [cit. 2013-02-17]. ISSN 01604120. DOI: 10.1016/S0160-4120(03)00121-1. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412003001211>>
- [2] WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1997. Flame retardants: A General Introduction. Environmental Health Criteria 192, World Health Organization, Geneva.
- [3] RAHMAN, F., LANGFORD, K. H., SCRIMSHAW, M. D., LESTER, J. N. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Science of The Total Environment* [online]. 2001, roč. 275, 1-3, s. 1-17 [cit. 2013-02-17]. ISSN 00489697. DOI: 10.1016/S0048-9697(01)00852-X. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896970100852X>>
- [4] WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1995. Tetrabromobisphenol A and derivatives. Environmental Health Criteria 172, World Health Organization, Geneva.
- [5] DE WIT, C. A. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* [online]. 2002, roč. 46, č. 5, s. 583-624 [cit. 2013-02-19]. ISSN 00456535. DOI: 10.1016/S0045-6535(01)00225-9. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653501002259>>
- [6] WATANABE, I., KASHIMOTO, T., TATSUKAWA, R. The flame retardant tetrabromobisphenol A and its metabolite found in river and marine sediments in Japan. *Chemosphere* [online]. 1983, roč. 12, 11-12, s. 1533-1539 [cit. 2013-02-20]. ISSN 00456535. DOI: 10.1016/0045-6535(83)90084-X. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/004565358390084X>>
- [7] WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1994. *Polybrominated biphenyls*. Environmental Health Criteria 152, World Health Organization, Geneva.
- [8] *Stockholm Convention* [online]. 2008 [cit. 2013-02-23]. Dostupné z: <[chm.pops.int](http://chm.pops.int)>
- [9] ERIKSSON, P., FISCHER, C., WALLIN, M., JAKOBSSON, E., FREDRIKSSON, A. Impaired behaviour, learning and memory, in adult mice neonatally exposed to hexabromocyclododecane (HBCDD). *Environmental Toxicology and Pharmacology* [online]. 2006, roč. 21, č. 3, s. 317-322 [cit. 2013-02-23]. ISSN 13826689. DOI: 10.1016/j.etap.2005.10.001. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1382668905001821>>
- [10] VAN DER VEN, L. T. M., VAN DE KUIL, T., LEONARDS, P. E. G., SLOB, W., LILIENTHAL, H., LITENS, S., HERLIN, M., HAKANSSON, H., CANTÓN, R. F., VAN DEN BERG, M., VISSER, T. J., VAN LOVEREN, H., VOS, J. G., PIERSMA, A. H. Endocrine effects of hexabromocyclododecane (HBCD) in a one-generation reproduction study in Wistar rats. *Toxicology Letters* [online]. 2009, roč. 185, č. 1, s. 51-62 [cit. 2013-02-23]. ISSN 03784274. DOI: 10.1016/j.toxlet.2008.12.003. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037842740801360X>>
- [11] DE WIT, C. A., HERZKE, D., VORKAMP, K. Brominated flame retardants in the Arctic environment - trends and new candidates. *Science of The Total Environment* [online].

- 2010, roč. 408, č. 15, s. 2885-2918 [cit. 2013-02-17]. ISSN 00489697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.08.037. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969709008055>>
- [12] WATANABE, I. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environment International* [online]. 2003, roč. 29, č. 6, s. 665-682 [cit. 2013-02-23]. ISSN 01604120. DOI: 10.1016/S0160-4120(03)00123-5. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412003001235>>
- [13] KORYTÁR, P., COVACI, A., DE BOER, J., GELBIN, A., BRINKMAN, U. A. Th. Retention-time database of 126 polybrominated diphenyl ether congeners and two Bromkal technical mixtures on seven capillary gas chromatographic columns. *Journal of Chromatography A* [online]. 2005, roč. 1065, č. 2, s. 239-249 [cit. 2013-02-15]. ISSN 00219673. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.12.059. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967304023544>>
- [14] KALACHOVA, K., HRADKOVA, P., LANKOVA, D., HAJŠLOVA, J., PULKRABOVA, J. Occurrence of brominated flame retardants in household and car dust from the Czech Republic. *Science of The Total Environment* [online]. 2012, roč. 441, s. 182-193 [cit. 2013-02-23]. ISSN 00489697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.09.061. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969712012612>>
- [15] WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1994. *Brominated diphenyl ethers*. Environmental Health Criteria 162, World Health Organization, Geneva.
- [16] Směrnice Evropského parlamentu a rady týkající se omezení uvádění na trh a používání některých nebezpečných látek a přípravků (pentabromdifenylether, oktobromdifenylether). In: *Směrnice 2003/11/ES*. 2003. Dostupné z: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:13:31:32003L0011:CS:PDF>>
- [17] *Bromine Science and Environmental Forum* [online]. [cit. 2013-02-23]. Dostupné z: <<http://www.bsef.com>>
- [18] MARSH, G., ATHANASIADOU, M., BERGMAN, A., ASPLUND, L. Identification of Hydroxylated and Methoxylated Polybrominated Diphenyl Ethers in Baltic Sea Salmon (Salmosalar) Blood. *Environmental Science* [online]. 2004, roč. 38, č. 1, s. 10-18 [cit. 2013-02-23]. ISSN 0013-936x. DOI: 10.1021/es034671j. Dostupné z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es034671j>>
- [19] LAW, R. J., ALLCHIN, C. R., DE BOER, J., COVACI, A., HERZKE, D., LEPOM, P., MORRIS, S., TRONCZYNSKI, J., DE WIT, C. A. Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment. *Chemosphere* [online]. 2006, roč. 64, č. 2, s. 187-208 [cit. 2013-02-23]. ISSN 00456535. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.12.007. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653505014347>>
- [20] HARNER, T., SHOEIB, M. Measurements of Octanol-Air Partition Coefficients ( $K_{OA}$ ) for Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs): Predicting Partitioning in the Environment. *Journal of Chemical* [online]. 2002, roč. 47, č. 2, s. 228-232 [cit. 2013-02-24]. ISSN 0021-9568. DOI: 10.1021/je010192t. Dostupné z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/je010192t>>
- [21] SU, Y., HUNG, H., SVERKO, E., FELLIN, P., LI, H. Multi-year measurements of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the Arctic atmosphere. *Atmospheric*

- Environment* [online]. 2007, roč. 41, č. 38, s. 8725-8735 [cit. 2013-02-24]. ISSN 13522310. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2007.07.032. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231007006590>>
- [22] RAFF, J. D., HITES, R. A. Deposition versus Photochemical Removal of PBDEs from Lake Superior Air. *Environmental Science* [online]. 2007, roč. 41, č. 19, s. 6725-6731 [cit. 2013-02-24]. ISSN 0013-936x. DOI: 10.1021/es070789e. Dostupné z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es070789e>>
- [23] TER SCHURE, A. F. H., LARSSON, P., AGRELL, C., BOON, J. P. Atmospheric Transport of Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls to the Baltic Sea. *Environmental Science* [online]. 2004, roč. 38, č. 5, s. 1282-1287 [cit. 2013-02-27]. ISSN 0013-936x. DOI: 10.1021/es0348086. Dostupné z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0348086>>
- [24] KRÓL, S., ZABIEGAŁA, B., NAMIEŚNIK, J. PBDEs in environmental samples: Sampling and analysis. *Talanta* [online]. 2012, roč. 93, s. 1-17 [cit. 2013-02-17]. ISSN 00399140. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.01.048. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914012000896>>
- [25] HERZKE, D., BERGER, U., KALLENBORN, R., NYGARD, T., VETTER, W. Brominated flame retardants and other organobromines in Norwegian predatory bird eggs. *Chemosphere* [online]. 2005, roč. 61, č. 3, s. 441-449 [cit. 2013-02-17]. ISSN 00456535. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.01.066. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653505002110>>
- [26] POPL, Milan. *Analytická chemie životního prostředí*. 4. přeprac. vyd. Praha: VŠCHT, 1999, 218 s. ISBN 80-708-0336-3.
- [27] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1990, 384 s. ISBN 80-030-0569-8.
- [28] VENTURA, K., ADAM, M. Příprava vzorků: Příprava vzorků k analýze - extrakční techniky. In: HELÁN, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999, s. 17-30. ISBN 80-902-4329-0.
- [29] LLORCA-PORCEL, J., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, G., ÁLVAREZ, B., COBOLLO, M. A., VALOR, I. Analysis of nine polybrominated diphenyl ethers in water samples by means of stir bar sorptive extraction – thermal desorption – gas chromatography – mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2006, roč. 569, 1-2, s. 113-118 [cit. 2013-02-20]. ISSN 00032670. DOI: 10.1016/j.aca.2006.03.100. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267006007082>>
- [30] COUFAL, P. Extrakce [online]. 2004, poslední revize 28. 7. 2004 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <<http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/extrakce.pdf>>
- [31] Schéma Soxhletova extraktoru [online]. 2006, poslední revize 18. 2. 2006 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <<http://canov.jergym.cz/nadobi/extrakto/extrakto.htm>>
- [32] ADAM, M., VENTURA, K. Příprava vzorků: Příprava vzorků k analýze - extrakční techniky, SFE a SPE. In: HELÁN, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2005, s. 15-24. ISBN 80-863-8029-7.
- [33] COUFAL, P. GC [online]. 2004, poslední revize 28. 7. 2004 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <<http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/gc.html>>

- [34] HROCH, M. *Studium distribuce halogenovaných difenyletherů do složek životního prostředí*. Brno, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 135 s. (Dizertační práce.) Vedoucí dizertační práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
- [35] PERTILE, E., ČABLÍK, V. *Instrumentální metody analýzy*. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2006, 238 s. ISBN 80-248-1049-2.
- [36] ŠEVČÍK, J. K. G. Plynová chromatografie: Plynová chromatografie a její aplikace v organické analýze. In: HELÁN, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2005, s. 103-150. ISBN 80-863-8029-7.
- [37] HAJŠLOVÁ, J., ALTEROVÁ, K., KŘIVÁNKOVÁ, J., GODULA, M. Plynová chromatografie: Aplikace chromatografických metod ve stopové analýze pesticidů. In: HELÁN, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999, s. 105-123. ISBN 80-902-4329-0.
- [38] VOLKA, K. *Analytická chemie II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1995, 236 s. ISBN 80-708-0227-8.
- [39] JANOUŠKOVÁ, E., ŘEHŮRKOVÁ, I., ČÁSLAVSKÝ, J., RUPRICH, J. Plynová chromatografie: Stanovení PCB a OCHP v potravinách metodou GC s ECD. In: HELÁN, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2005, s. 201-208. ISBN 80-863-8029-7.
- [40] CHURÁČEK, J., KOTRLÝ, S. *Analytická chemie II*. 1. vyd. Pardubice: VŠCHT v Pardubicích, 1983. 189 s.
- [41] ČÁSLAVSKÝ, J. Chromatografie s hmotnostní detekcí: Úvod do hmotnostní spektrometrie. In Helán, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2005, s. 273-281. ISBN 80-863-8029-7.
- [42] ŠTULÍK, K. a kol.: *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004, 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [43] SCHŮREK, J., HAJŠLOVÁ, J., ZROSTLÍKOVÁ, J. Chromatografie s hmotnostní detekcí: Plynová chromatografie s „time-of-flight“ hmotnostně spektrometrickou detekcí a její aplikační potenciál. In Helán, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2005, s. 321-350. ISBN 80-863-8029-7.
- [44] HARYNUK, J.: *Comprehensive Two – dimensional Gas Chromatography (GCxGC)* [online]. 2009, poslední revize 18.6. 2009 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <[http://www.scitopics.com/Comprehensive\\_Two\\_dimensional\\_Gas\\_Chromatography\\_GCxGC.html](http://www.scitopics.com/Comprehensive_Two_dimensional_Gas_Chromatography_GCxGC.html)>
- [45] KAZDA, R., HAJŠLOVÁ, J., POUSTKA, J., ČAJKA, T. Determination of polybrominated diphenylethers in human milk samples in the Czech Republic. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2004, roč. 520, 1-2, s. 237-243 [cit. 2013-02-23]. ISSN 00032670. DOI: 10.1016/j.aca.2004.04.069. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267004006026>>
- [46] Faculty of Health and Wellbeing (Sheffield Hallam University): *Gas chromatography* [online]. [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <<http://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/chrom/gaschrom.htm>>

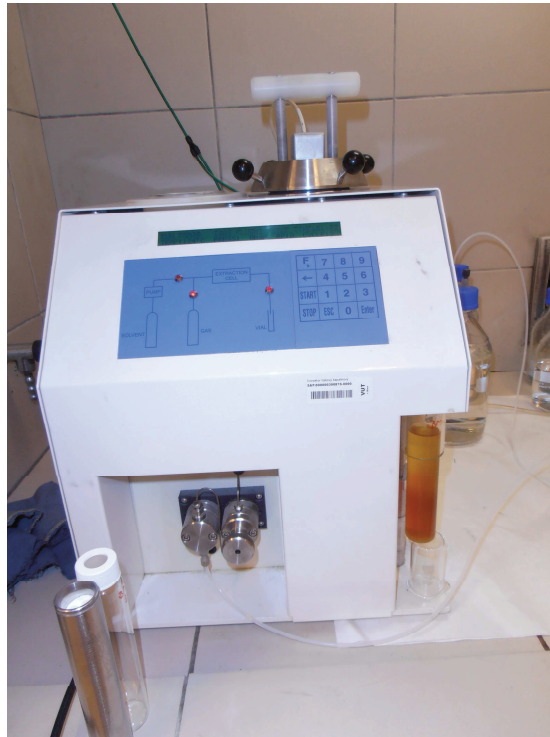
- [47] GATES, P. *Quadrupole & Triple Quadrupole (QQQ) Mass Analysis* [online]. 2009, poslední revize 26. 5. 2009 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <<http://www.chm.bris.ac.uk/ms/theory/quad-massspec.html>>
- [48] GATES, P. *Time-of-Flight (TOF) Mass Analysis* [online]. 2002-2005, poslední revize 18. 9. 2005 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <<http://www.chm.bris.ac.uk/ms/newversion/tof-ms.htm>>
- [49] The University of Maine: Mass spectrometry [online]. Dostupné z: <<http://chemistry.umeche.maine.edu/CHY251/Ch13-Overhead4.html>>
- [50] Webové stránky firmy Leco (Orthogonální dvojrozměrná plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem Time-of-Flight). Dostupné z: <[http://www.leco.cz/cz/products/sep\\_sci/pegasus\\_4d/pegasus\\_4d.htm](http://www.leco.cz/cz/products/sep_sci/pegasus_4d/pegasus_4d.htm)>

## 10. POUŽITÉ ZKRATKY

ASE – Accelerated Solvent Extraction  
DBDPE – dekabromdifenyl ethan  
DDT – dichlordifenyltrichlorethan  
DeBDE – technická směs dekabromovaného difenyletheru  
ECD – Elektron Capture Detector  
GC – Gas Chromatography  
HBCD – hexabromcyklododecan  
HxBBz – hexabrombenzen  
ISO – International Organization for Standardization  
LOD – Limit of Detection  
LOQ – Limit of Quantification  
MAE – Microwave Assisted Extraction  
MeO-PBDE – methoxylované polybromované difenylethery  
MS – Mass Spectrometry  
OBDE – technická směs oktabromovaného difenyletheru  
OH-PBDE – hydroxylované polybromované difenylethery  
PBB – polybromované bifenyly  
PBDE – polybromované difenylethery  
PBEB – pentabrommethylbenzen  
PBT – pentabromtoluen  
PCB – polychlorované bifenyly  
PeBDE – technická směs pentabromovaného difenyletheru  
PLOT – Porous Layer Open Tubular  
PSE – Pressurized Solvent Extraction  
PTV – Programmed Temperature Vaporizing Injector  
QA/QC – Quality Assurance / Quality Control  
SFE – Supercritical Fluid Extraction  
TBBPA – tetrabrombisfenol A  
TOF – Time-of-flight  
USA – Spojené státy americké  
USE – Ultrasonic Assisted Extraction  
U.S. EPA – United States Environmental Protection Agency  
WCOT – Wall Coated Open Tubular

## 11. PŘÍLOHY

### *Příloha 1: Extrakce podporovaná tlakem – reálný vzorek půdy*



### *Příloha 2: Extrakce ultrazvukem*

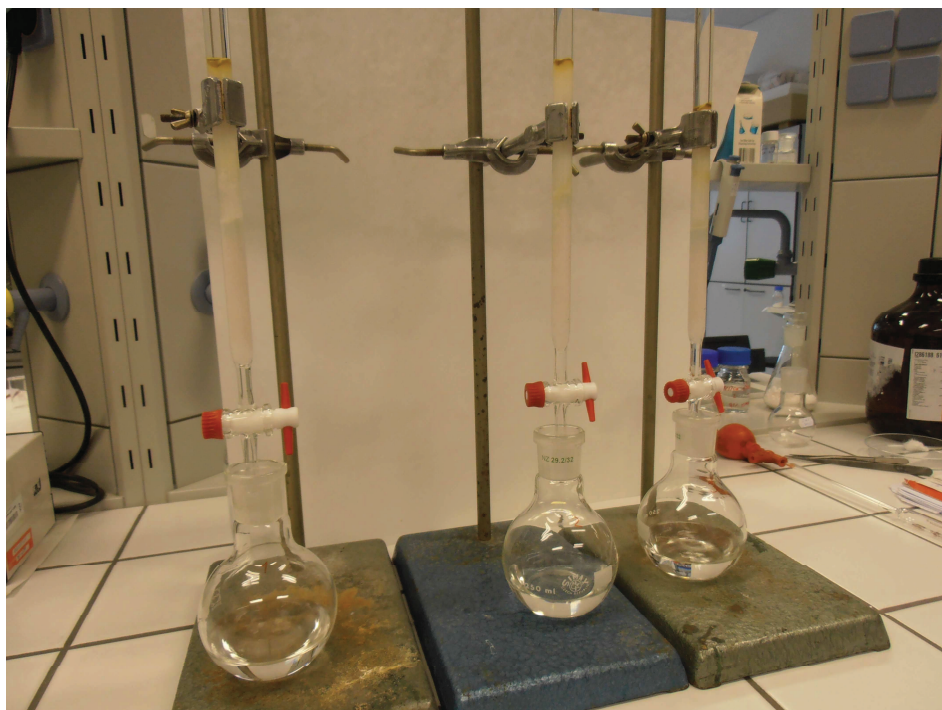




### ***Příloha 3: Odpařování na vakuové odparce***



### ***Příloha 4: Přečištění extraktů***



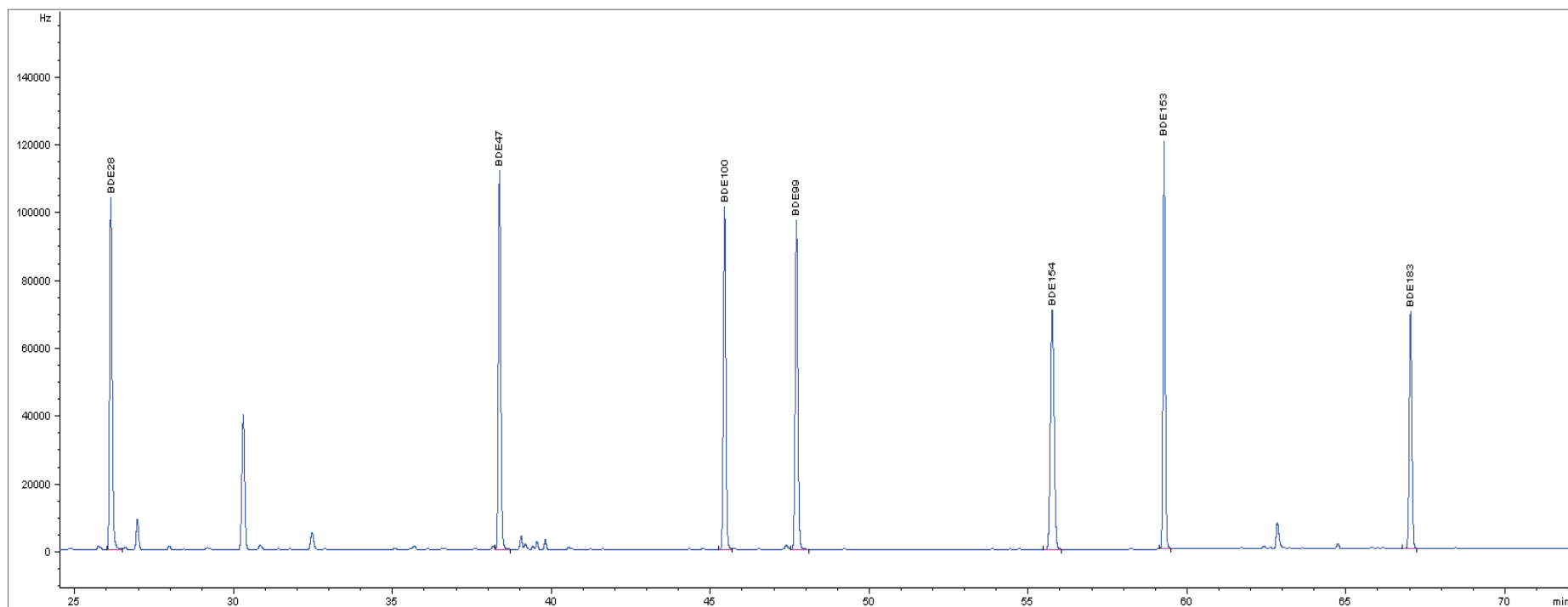
**Příloha 5: Plynový chromatograf s detekcí elektronového záchytu**



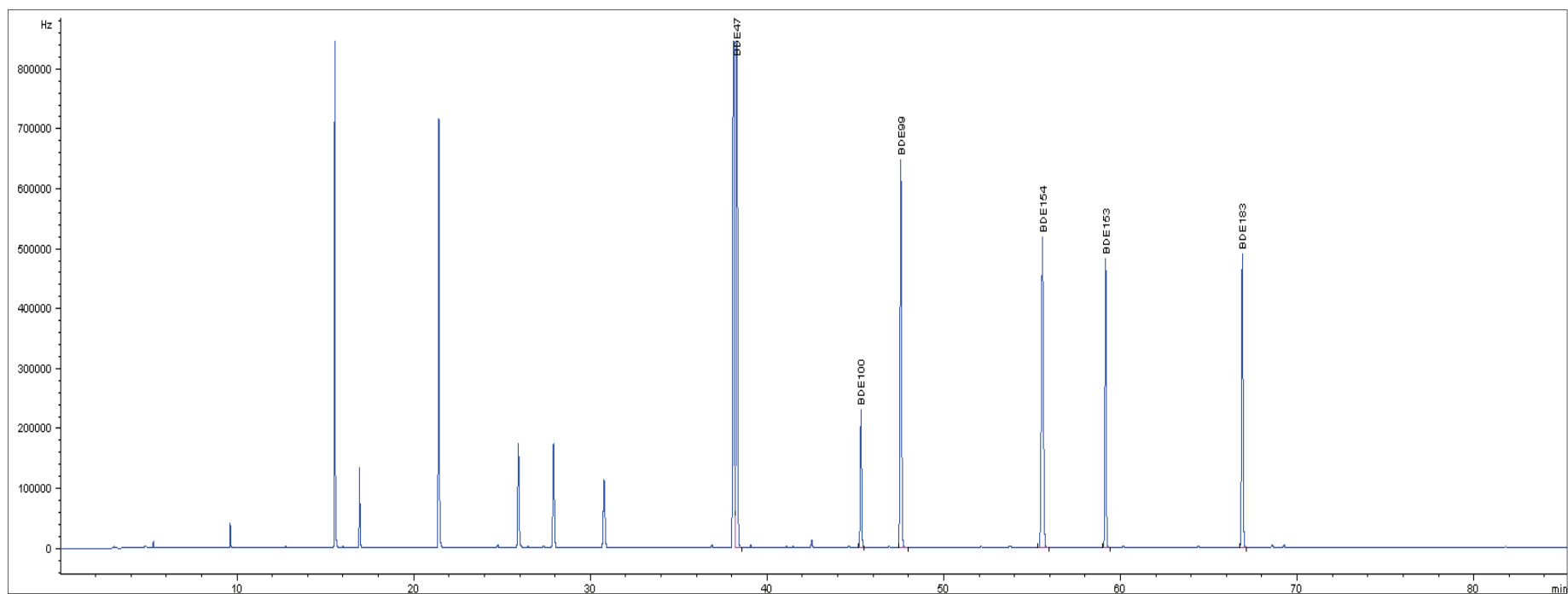
**Příloha 6: Plynový chromatograf s hmotnostním spektrometrem**



**Příloha 7: Chromatogram – matriční kalibrace, koncentrace 400 ng · ml<sup>-1</sup>**



**Příloha 8: Chromatogram – certifikovaný referenční materiál**



**Příloha 9: Chromatogram – vzorek půdy z požáru lesa ve Velmovicích**

