

# ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

Excelentní tým pro mitigaci



Česká  
zemědělská  
univerzita  
v Praze

## **Optimalizace metody pro analýzu biogenních organických látek emitovaných smrkem ztepilým napadeným kůrovcem**

Diplomová práce

Vypracovala: Bc. Markéta Pražáková

Vedoucí práce: Ing. Anna Jirošová, Ph.D.

2022

**CZECH UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES  
PRAGUE**



Česká  
zemědělská  
univerzita  
v Praze

Faculty of Forestry and Wood Sciences

Excellent team for mitigation

**Optimisation of analytical methodology for  
determination of biogenic organic volatiles emitted  
by bark beetle infested Norway spruce**

Thesis

Author: Bc. Markéta Pražáková

Supervisor: Ing. Anna Jirošová, Ph.D.

2022



Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autorka práce:	Bc. Markéta Pražáková
Studijní program:	Lesní inženýrství
Obor:	Lesní inženýrství
Vedoucí práce:	Ing. Anna Jirošová, Ph.D.
Garantující pracoviště:	Excelentní tým pro mitigaci
Jazyk práce:	Čeština
Název práce:	<b>Optimalizace metody pro analýzu biogenních organických látek emitovaných smrkem ztepilým napadeným kůrovcem.</b>
Název anglicky:	<b>Optimisation of analytical methodology for determination of biogenic organic volatiles emitted by bark beetle infested Norway spruce</b>
Cíle práce:	<p>Stromy napadené herbivory a patogeny produkují měřitelné množství biogenních těkavých organických látek (BVOC), ať už jako obranu proti útočníkovi, nebo jako metabolickou reakci na zranění. Množství a profil těchto sloučenin, které jsou u smrku ztepilého především terpenické povahy, ukazuje na úroveň napadení např. lýkožroutem smrkovým a mohlo by být měřitelným znakem pro detekci napadených stromů. Biogenní těkavé organické látky se stanovují analytickými metodami. Jednou z nich je tzv. dynamická headspace analýza, kdy jsou těkavé látky rozptýlené ve vzduchu aktivně pumpovány skrz kolonku naplněnou sorbující látkou. Z kolonky jsou potom extrahovány a jejich množství a profil je měřeno pomocí plynové chromatografie.</p> <p>Cílem této diplomové práce bude shrnout v literární rešerši poznatky o emisi těkavých látek napadenými stromy a dále metody k jejich analýze. V praktické části pak bude optimalizována metoda headspace analýzy pro směs látek připravenou dle BVOC emitovaných napadeným smrkem, zjištěna optimální náplň kolon, průtok vzduchu a vyvinut systém použitelný pro vzorkování těchto látek poblíž napadeného stromu. Součástí práce bude i pilotní vzorkování BVOC na povrchu a v okolí modelu smrku ztepilého napadeného lýkožroutem smrkovým, nebo v okolí fakticky napadeného stromu. Cílem práce shrnout poznatky o optimalizaci systému a zhodnotit jeho účinnost při reálném vzorkování a analýze.</p>
Metodika:	<p>Směs sestávající z hlavních BVOC emitovaných napadeným smrkem ztepilým (zjištěno průzkumem literatury a z předchozích měření týmu) bude připravena v očekávaném poměru z komerčně dostupných individuálních sloučenin. Součástí optimalizace bude vývoj dávkovače směsi o předpokládaném odparu. K optimalizaci metody headspace analýzy bude testováno několik typů sorbentů a několik typů kolonek. Důležitým parametrem bude průtok kolonkami a jeho kalibrace. V neposlední řadě bude vybráno nejvhodnější rozpouštědlo pro extrakci látek z kolonek. Množství látek bude měřeno metodou plynové chromatografie. Systém s celkově nejlepšími parametry bude použit na vzorkování BVOC v modelovém nebo reálném systému smrku napadeného lýkožroutem smrkovým. Rozvrh: Květen/srpen 2021, optimalizace systému, vývoj odparníků BVOC. Srpen/říjen 2021 vzorkování BVOC z modelového nebo reálného napadeného smrku ztepilého. Listopad /prosinec 2021 analýza výsledků. Leden/duben 2022-kompilace výsledků a poznatků z literatury v diplomové práci</p>

Doporučený rozsah práce: 40-60

Klíčová slova: monoterpeny, headspace analýza, smrk ztepilý, sorbenty

Doporučené zdroje informací:

1. Birgersson, G. and G. Bergström (1989). "Volatiles released from individual spruce bark beetle entrance holes - quantitative variations during the 1st week of attack." *Journal of Chemical Ecology* 15(10): 2465-2483.
2. Ghimire R.P. , Kivimäenpää M. , Blomqvist M. , Holopainen T. , Lyytikäinen-Saarenmaa P. , Holopainen J.K. (2016) Effect of bark beetle (*Ips typographus* L.) attack on bark VOC emissions of Norway spruce (*Picea abies* Karst) trees *Atmos. Environ.*, 126 , pp. 145-152
3. Holopainen, J.K. & Gershenzon, J. (2010) Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*, 15, 176–184
4. Raguso, R.A. & Pellmyr, O. (1998) Dynamic headspace analysis of floral volatiles: a comparison of methods. *Oikos*, 81, 238– 254.
5. Schaub, A., Blande, J.D., Graus, M., Oksanen, E., Holopainen, J.K. & Hansel, A. (2010) Real-time monitoring of herbivore induced volatile emissions in the field. *Physiologia Plantarum*, 138, 123– 133.
6. Tholl, D., Boland, W., Hansel, A., Loreto, F., Röse, U.S.R. & Schnitzler, J.-P. (2006) Practical approaches to plant volatile analysis. *The Plant Journal*, 45, 540– 560.
7. Tholl D., Hossain O., Weinhold A., Röse U., Wei Q., (2021). Trends and applications in plant volatile sampling and analysis, *The Plant Journal*, 10.1111/tpj.15176, 0, 0

Předběžný termín obhajoby: 2021/22 LS - FLD

Konzultant: Ing. Jaromír Hradecký, PhD., Ing. Barbora Stříbrská  
Ing. Barbora Stříbrská  
Antonioni Moliterno, MSc

Elektronicky schváleno: 29. 4. 2021  
**prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.**  
Vedoucí ústavu

Elektronicky schváleno: 1. 3. 2022  
**prof. Ing. Róbert Marušák, PhD.**  
Děkan

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Optimalizace metody pro analýzu biogenních organických látek emitovaných smrkem ztepilým napadeným kůrovcem pod vedením Ing. Anna Jirošová, Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne \_\_\_\_\_

Podpis autora: \_\_\_\_\_

**Poděkování:**

V první řadě bych chtěla poděkovat své vedoucí práce Ing. Anně Jirošové, Ph.D. za odborné vedení práce a její cenné rady. Také bych velice ráda poděkovala Ing. Barboře Stříbrské za odborné konzultace, připomínky a celkovou podporu při zpracovávání práce. Dále bych chtěla poděkovat Antonioni Moliterno, MSc. za analyzování vzorků a odbornou pomoc při analytické části. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině, přátelům za podporu a trpělivost.

## **Abstrakt**

V posledních letech je jedním z našich nejvýznamnějších kalamitních škůdců smrku ztepilého (*Picea abies*) lýkožrout smrkový (*Ips typographus*). Jde o velký problém, neboť smrk je v českých lesích nejpočetnější hospodářskou dřevinou. K zamezení šíření zmiňovaného kalamitního škůdce se používají tradiční způsoby detekce, jako je například okulární metoda. Mimo tohoto tradičně používaného způsobu, se v posledních letech uvažuje i o alternativních metodách. Některé z těchto alternativních metod jsou založeny na detekci biogenních těkavých organických sloučenin (BVOC) produkovaných stresovanými stromy. Jednou z těchto metod se zabývá i tato diplomová práce. Hlavním předmětem této práce je optimalizace metody head-space, která slouží k analýze BVOC emitovaných smrkem ztepilým při napadení lýkožroutem. Perspektivou tohoto výzkumu je, že by tato metoda detekce monoterpenů napadených stromů mohla zrychlit lokalizaci postižených stromů v porostu, což by mohlo pomoci k časně asanaci napadených jedinců a díky tomu by nedocházelo k dalšímu šíření lýkožrouta smrkového do přilehlých porostů. Tento fakt by napomohl k lepšímu zvládnutí kůrovcové kalamity v českých lesích. Odběr vzorků biogenních organických látek pro optimalizaci této metody probíhal od června do listopadu roku 2021. Diplomová práce se především zaměřuje na head-space analýzu a na optimalizaci jednotlivých kroků této analýzy. Výzkum se zaměřil na optimalizaci, jak jednotlivých aspektů této metody, tak i na optimalizaci feromonových odparníků, které byly použity pro měření. Odběr BVOC pro optimalizaci jednotlivých složek head-space analýzy probíhal převážně v laboratorních podmínkách. Samotný odběr byl prováděn: 1. pod skleněným zvonem, 2. ve větrném tunelu, 3. ze smrkového výřezu, 4. z falešného stromu. Výsledkem této práce je stanovení optimálního sorbentu a jeho množství v kolonkách, stanovení optimálního průtoku vzduchu při vzorkování a stanovení optimálního rozpouštědla včetně jeho množství. Práce se dále zabývá zjištěním optimálního odparu feromonových odparníků, tak aby odparníky věrohodně simulovaly skutečně napadený smrkový les, nejen ve složení odpařovaných látek, ale i v množství odparu.

## **Klíčová slova**

monoterpeny, head-space analýza, smrk ztepilý, sorbenty, BVOC, lýkožrout smrkový, včasná detekce

## **Abstract**

In recent years, one of our most important calamitous pests of Norway spruce (*Picea abies*) has been the bark beetle (*Ips typographus*). This is a problem mainly because spruce is the most abundant economic tree species in Czech forests. Traditional detection methods such as the ocular method are used to prevent the spread of this calamitous pest. Apart from this traditionally used method, alternative methods have been considered in recent years. Some of these alternative methods are based on the detection of biogenic volatile organic compounds (BVOCs) produced by stressed trees. This thesis deals with one of these methods. The main focus of this thesis is the optimization of the head-space method for the analysis of BVOCs emitted by Norway spruce during a lycopod borer infestation. The perspective of this research is that this method of detecting monoterpenes of infested trees could lead to an acceleration of the localization of affected trees in the stand. This could help in early removal of infested individuals and thus prevent further spread of spruce bark beetle to adjacent stands and help to better manage the ongoing bark beetle calamity in Czech forests. The sampling of biogenic organic matter for the optimization of this method was carried out from June to November 2021. The main focus of the thesis is on the head-space analysis and the optimization of the individual steps of this analysis. The research focused on optimizing both the individual aspects of this analysis and the optimization of the pheromone evaporators that were used for the measurements. The collection of BVOCs to optimize the individual components of the head-space analysis was conducted primarily under laboratory conditions. The actual sampling was conducted: 1. under a glass bell, 2. in a wind tunnel, 3. from a spruce cut, and 4. from a mock tree. This work resulted in the determination of the optimum sorbent and its amount in the columns, as well as the determination of the optimum airflow during sampling and the determination of the optimum solvent including its amount. The thesis also deals with the determination of the optimal evaporation rate of pheromone vaporizers, so that the vaporizers credibly simulate a real infested spruce forest, not only in the composition of the evaporated substances but also in the amount of evaporation.

## **Key words**

monoterpenes, head-space analysis, Norway spruce, sorbents, BVOC, bark beetle, early detection



## Obsah

1.	Úvod .....	14
2.	Cíl práce .....	15
3.	Rozbor problematiky .....	16
3.1.	Smrk ztepilý .....	16
3.1.1.	Škodliví činitelé smrku .....	17
3.2.	Lýkožrouti na smrku .....	18
3.3.	Postup napadení hostitelské dřeviny lýkožroutem .....	20
3.4.	Těkavé organické sloučeniny .....	20
3.4.1.	Biogenní těkavé organické sloučeniny .....	21
3.4.2.	Obranné mechanismy smrku .....	22
3.4.3.	Emise těkavých látek napadených stromů .....	23
3.4.4.	<i>Feromony produkované lýkožroutem smrkovým při kolonizaci</i> .....	24
3.5.	Techniky používané pro izolaci těkavých složek .....	25
3.5.1.	Destilační techniky .....	25
3.5.2.	Extrakční technika .....	26
3.5.3.	Head-space analýza .....	27
3.5.4.	Plynová chromatografie .....	27
3.5.5.	Elektronický nos .....	28
3.6.	Výchozí data pro experiment .....	29
4.	Metodika .....	31
4.1.	Odparníky .....	31
4.2.	Postup při optimalizaci head-space analýzy .....	33
4.2.1.	Kolonky určené k měření .....	33
4.2.2.	Měření průtoku a času .....	35
4.2.3.	Stanovení rozpouštědla a jeho množství .....	35
4.3.	Metody získávání vzorků .....	36
4.3.1.	Odběr vzorků pod zvonem .....	36
4.3.2.	Odběr vzorků z větrného tunelu .....	37
4.3.3.	Odběr vzorků ze smrkového výřezu .....	38
4.3.4.	Odběr vzorků z falešného stromu .....	39
4.3.5.	Odběr vzorků za pomoci SPME vlákna .....	40
4.4.	Analýza naměřených vzorků .....	41
4.4.1.	Získávání dat z plynové chromatografie .....	41
4.4.2.	Chromatogram .....	42
4.4.3.	Kalibrační křivky .....	43

4.4.4.	Statistická analýza naměřených vzorků .....	44
5.	Výsledky a diskuse.....	45
5.1.	Optimalizace odparníků .....	45
5.1.1.	Gravimetrická analýza odparníků .....	45
5.1.2.	Vliv počtu odparníků na sorpci BVOC.....	46
5.2.	Optimalizace sorpčního materiálu a množství kolonek pro odběr .....	48
5.2.1.	Určení množství kolonek.....	48
5.2.2.	Porovnání vlastních kolonek s komerčně vyráběnými.....	48
5.2.3.	Porovnání dvou komerčně vyráběných kolonek.....	49
5.3.	Optimalizace průtoku a času sorpce .....	50
5.4.	Optimalizace průtoku vzduchu ve větrném tunelu.....	51
5.5.	Optimalizace rozpouštědla .....	52
5.5.1.	Optimalizace množství rozpouštědla .....	52
5.6.	Vliv vzdálenosti odběru vzorků na zachycení BVOC.....	54
5.7.	Získané hodnoty při optimálním měření.....	54
5.7.1.	Měření pod zvonem .....	55
5.7.2.	Měření ve větrném tunelu .....	55
5.7.3.	Měření smrkového výřezu .....	56
5.7.4.	Měření falešného stromu.....	58
5.7.5.	Měření za pomoci SPME vlákna .....	59
6.	Závěr.....	66
7.	Seznam použité literatury .....	67
8.	Seznam příloh.....	75
9.	Přílohy .....	76

## Seznam tabulek

Tab. č. 1. Výchozí data pro experiment .....	30
Tab. č. 2. BVOC napadeného smrku .....	32
Tab. č. 3. Konstrukce odparníků .....	32
Tab. č. 4. Specifikace komerčních kolonek .....	33
Tab. č. 5. Specifikace vyrobených kolonek .....	34
Tab. č. 6. Vliv počtu odparníků na záchyt BVOC .....	46
Tab. č. 7. Souhrnné výsledky měření pod skleněným zvonem (18. 06. 2021) .....	47
Tab. č. 8. Souhrnné výsledky měření z větrného tunelu (29. 06. 2021) .....	47
Tab. č. 9. Specifika měření při optimalizaci sorpčního materiálu .....	48
Tab. č. 10. Specifika měření při optimalizace komerční kolonky .....	49
Tab. č. 11. Výsledky měření při porovnávání komerčních kolonek .....	50
Tab. č. 12. Specifikace měření při optimalizaci průtoku vzduchu větrným tunelem .....	51
Tab. č. 13. Výsledky měření při optimalizaci průtoku vzduchu větrným tunelem .....	52
Tab. č. 14. Specifikace měření při optimalizaci množství rozpouštědla .....	53
Tab. č. 15. Výsledky měření při optimalizaci množství rozpouštědla .....	53
Tab. č. 16. Specifikace měření při optimalizaci vzdálenosti odběru vzorků .....	54
Tab. č. 17. Výsledky měření při různých vzdálenostech od výřezu .....	54
Tab. č. 18. Specifika optimalizovaných měření pod zvonem .....	55
Tab. č. 19. Specifika optimalizovaných měření ve větrném tunelu .....	55
Tab. č. 20. Specifika optimalizovaných měření smrkového výřezu .....	56
Tab. č. 21. Měření ze dne 01. 11. 2021 napadený výřez .....	56
Tab. č. 22. Soubor specifik z měření falešného stromu .....	58
Tab. č. 23. Sběr SPME vláknem přímo z napadeného výřezu .....	59
Tab. č. 24. Sběr s SPME vláknem 30 cm od napadeného výřezu .....	61
Tab. č. 25. Sběr s SPME vláknem v různých vzdálenostech od napadeného výřezu .....	63

## Seznam obrázků

Obr. č. 1. Smrk ztepilý (Autor: M. Pražáková).....	16
Obr. č. 2. <i>Ips typographus</i> s požerkem (Autor: M. Pražáková).....	19
Obr. č. 3. Výron pryskyřice .....	22
Obr. č. 4. Monoterpeny emitované smrkem ztepilým (Neherer et al., 2021).....	23
Obr. č. 5. Monoterpeny emitované Lýkožroutem smrkovým (Neherer et al., 2021).....	24
Obr. č. 6. SPME vlákno (Autor: M. Pražáková).....	26
Obr. č. 7. Schématický náčrt plynového chromatografu (Zdroj: wikipedia.org.) .....	28
Obr. č. 8. Elektronický nos (Autor: M. Pražáková) .....	28
Obr. č. 9. Typy odparníků (Autor: B. Stříbrská).....	31
Obr. č. 10. Komerční kolonky (Autor: M. Pražáková) .....	33
Obr. č. 11. Vlastní vyrobené kolonky (Autor: M. Pražáková).....	33
Obr. č. 12. Získávání vzorků z kolonek (Autor: M. Pražáková).....	34
Obr. č. 13. Pocket Pump Touch (Autor: M. Pražáková) .....	35
Obr. č. 14. Odběr vzorků pod zvonem (Autor: M. Pražáková).....	37
Obr. č. 15. Odběr vzorků z větrného tunelu (Autor: M. Pražáková).....	37
Obr. č. 16. Odběr vzorků z výřezu (Autor: M. Pražáková).....	38
Obr. č. 17. Falešný strom v lab. podmínkách (Autor: M. Pražáková) .....	39
Obr. č. 18. Venkovní falešný strom (Autor: M. Pražáková) .....	39
Obr. č. 19. smrkový výřez (Autor: M. Pražáková) .....	40
Obr. č. 20. SPME vlákno (Autor: M. Pražáková).....	40
Obr. č. 21. Plynový chromatograf typ Agilent 8890 (Autor: M. Pražáková).....	41
Obr. č. 22. Kvalitativní analýza (Shimadzu Exelent in science).....	41
Obr. č. 23. Kvantitativní analýza (Shimadzu Exelent in science).....	42
Obr. č. 24. Chromatogram.....	42
Obr. č. 25. měření přímo na výřezu pomocí SPME vlákna .....	59
Obr. č. 26. Vzorky odebírané SPME vláknem ve stejnou dobu.....	62

## Seznam grafů

Graf č. 1. Kalibrační křivka $\alpha$ -pinenu pro metodu head-space .....	65
Graf č. 2. Kalibrační křivka 2-metil-3-butan-2-olu pro metodu head-space .....	43
Graf č. 3. Srovnání průměrů $\alpha$ -pinenu na sorpční kolonku.....	57
Graf č. 4. Srovnání průměrů Methybutenolu na sorpční kolonku. ....	57
Graf č. 5. Srovnání $\alpha$ -pinenu na sorpční kolonku (doba sorpce 10 a 30 min).....	60
Graf č. 6. Srovnání Methybutenolu na sorpční kolonku (délka sorpce 10 a 30 min).....	60
Graf č. 7. Srovnání $\alpha$ -pinenu na sorpční kolonku (délka sorpce 5 a 15 min) .....	61
Graf č. 8. Srovnání Methybutenolu na sorpční kolonku (délka sorpce 5 a 15 min).....	62
Graf č. 9. Srovnání $\alpha$ -pinenu při odběrech na SPME vlákno (0,1 a 1 m).....	64
Graf č. 10. Srovnání $\alpha$ -pinenu při odběrech na SPME vlákno (0,1 a 1 m) .....	65

## Seznam použitých zkratk

°C	stupně Celsia	min	minuta
BVOC	biogenní těkavé organické sloučeniny	ml	mililitr
C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	Hexan	mm	milimetr
cm	centimetr	MS	hmotnostní spektrometrie
CO <sub>2</sub>	Oxid uhličitý	MT	monoterpen
et al.	a kolektiv	PHENIPS	komplexním fenologickém model
FID	plamenově ionizační detektor	SO <sub>2</sub>	Oxid siřičitý
GC	plynová chromatografie	SPME	mikroextrakce tuhou fází
ha	hektar	SQT	seskviterpen
m n. m.	metrů nad mořem	VOC	těkavé organické sloučeniny
m	metr	μl	mikrolitr
MB	2-methyl-3-buten-2-ol	ppb	částice na jeden bilion
mg	miligram		

## 1. Úvod

Hlavní hospodářskou dřevinou v České republice je smrk ztepilý (*Picea abies* L., Karst.), který tvoří 48,8 % (1 274 241 ha) dřevinné skladby českých lesů (Ministerstvo zemědělství, 2020), zároveň je tato dřevina hlavní hostitelskou dřevinou Lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*, Linnaeus, 1758). Proto je velkým problémem přemnožování tohoto lýkožrouta. Toto, až kalamitní přemnožení lýkožrouta není zdaleka problém pouze České republiky, ale téměř celé Evropy i části Asie (Lubojacký et al. 2019). Dle odhadů je *Ips typographus* zodpovědný od roku 1850 až po rok 2000 za úhyn 8 % jehličnatých stromů v Evropě (Hlásny et al., 2021).

Důležitým faktorem v boji proti přemnožení je jeho včasné nalezení a asanování napadeného jedince. Management hospodaření je založen zároveň na úpravě struktury a složení lesů tak, aby docházelo k zamezení snadného šíření těchto kalamitních škůdců. V dnešní době je prozatím hlavním prostředkem při detekci lýkožrouta použití okulární metody. Tato metoda je založena na zdoluhavém obcházení jednotlivých porostů a vyhledávání napadených stromů lesníkem. Z toho důvodu je nyní vynakládáno značné úsilí do studie alternativních metod detekce. Mezi tyto alternativní metody se řadí například skenování porostů za pomoci dronů a GIS, používání psů a v neposlední řadě detekce napadených stromů pomocí monoterpenů, které produkují stresované stromy. Touto metodou se zabývá i tato práce.

Stromy napadené biologickými činiteli (jako jsou herbivoři, patogeny), ale i abiotickými činiteli (např. mechanické poranění) produkují měřitelné množství biogenních těkavých organických látek (BVOC), ať už jako obranu proti útočníkovi, tak i jako metabolickou reakci na zranění. Množství a profil těchto sloučenin, které jsou u smrku ztepilého především terpenické povahy, ukazují na úroveň hladiny stresu, který vzniká při napadení např. lýkožroutem smrkovým. Množství těchto látek by mohlo být měřitelným znakem pro detekci napadených stromů. BVOC se stanovují analytickými metodami. Jednou z nich je tzv. dynamická head-space analýza, kdy jsou těkavé látky rozptýlené ve vzduchu aktivně sorbovány do kolonky naplněné sorbující látkou. Z kolonky jsou potom extrahovány a jejich množství a profil je měřen pomocí plynové chromatografie (GC). Tyto metody detekce pomocí emise těkavých látek produkovaných lesním porostem již byly zkoumány při poškození herbivory. Pro případné použití při detekci lýkožrouta je nutné tyto metody optimalizovat v laboratorních a v modelových podmínkách. Provedení této optimalizace je hlavním cílem této diplomové práce.

## 2. Cíl práce

Hlavním cílem této diplomové práce, který je detailně rozpracován v bodě 3. Rozbor problematiky, je shrnutí poznatků o emisích biogenních těkavých organických sloučenin (BVOC) u napadených stromů (*Picea abies*) a následné metody používané k jejich analýze. Tato studie se především zaměřuje na jednu z těchto metod detekce. Jedná se o head-space analýzu, kterou se snaží tato práce optimalizovat, abychom mohli získané informace využít v praxi.

Praktická část této práce je založena na optimalizaci jednotlivých parametrů sloužících k provedení optimálního měření pomocí head-space analýzy. Tento hlavní cíl praktické části lze rozdělit na několik dílčích cílů.

1. Před zahájením samotného šetření je zapotřebí nejdříve optimalizovat odparníky, s nimiž bude měření prováděno. Je nutné, aby tyto odparníky věrně simulovaly exhalace BVOC skutečného smrkového porostu.
2. Stanovení optimálních kolonek pro zachytávání BVOC. Tato optimalizace je založena jak na stanovení nejlepšího sorbentu, tak i na jeho množství a celkové konstrukce kolonky.
3. Výběr vhodného zařízení, které bude zajišťovat nasávání vzduchu do kolonek tak, aby docházelo v kolonkách k sorpci BVOC. Při této optimalizaci je důležité stanovit optimální průtok a čas této sorpce tak, aby bylo možné těchto poznatků využít poté v praxi.
4. Zjištění, jakým způsobem je nejlepší získávat BVOC z kolonek. Jaké rozpouštědlo je vhodné a jaké množství je zapotřebí k tomu, aby se z kolonky vymyly všechny zachycené látky.

Dalším krokem po splnění všech těchto dílčích cílů zaměřených na optimalizaci parametrů, které jsou potřebné pro nejefektivnější využití Head-space analýzy je využití těchto poznatků k pilotnímu vzorkování BVOC na zdravých i infikovaných výřezech smrku a také odběr vzorků poblíž falešného stromu.

### 3. Rozbor problematiky

Kmeny jehličnatých dřevin jsou napadeny širokou škálou organismů, včetně hmyzu, obratlovců, hub a bakterií. Tento fakt je způsoben tím, že floém (vodivé pletivo) pod kůrou je bohatý na organické živiny (Franceschi et al., 2005). Jednou z možností obrany jehličnaté dřeviny je výron pryskyřice, z které se uvolňují monoterpeny (MT) do atmosféry (Eller et al., 2013). Díky tomu jsou tyto porosty hlavním zdrojem biogenních těkavých organických sloučenin (BVOC) v oblastech spadajících do boreální zóny. Díky uvolňování MT při výronu pryskyřice se očekává, že emise těchto látek se budou zvyšovat v závislosti na měnícím se klimatu a s ním spjatým zvyšujícím se stresem jak ze sucha, tak i z následného napadání biologických činitelů. (Ghimire, et al. 2016).

#### 3.1. Smrk ztepilý

Smrk ztepilý (*Picea abies* (L.) Karst.) je zástupcem čeledi *Pinaceae* a spadá do rodu *Picea* (Obr. č. 1.). Jedná se o jednodomé vždy zelené jehličnaté stromy s poměrně tenkou borkou. Smrky se dorůstají 50 – 60 m, a průměr kmene může činit až 150 cm. Kmen je štíhlý, přímý, válcovitý s pravidelným přeslenitým větvením (Úřadníček, et al. 2009). Tyto stromy se mohou dožívat věku 200-300 let (les ochranný, zvláštního určení). Jehlice jsou 10-20 mm dlouhé a na průřezu čtyřhranné, nebo ploché. Dřevo není barevně rozlišeno na jádro a běl. Celkově je zbarveno do žlutobílé až nahnědlé barvy, je bezjaderné a stejnorodé. Letokruhy jsou ostře ohraničené s pozvolným přechodem mezi jarním a letním dřevem v rámci letokruhu (Úřadníček, et. al, 2001).



Obr. č. 1. Smrk ztepilý  
(Autor: M. Pražáková)

Jedná se o světlomilnou dřevinu, která v mládí snáší zástin a díky tomu se snadno dostává do starších porostů a zaujímá místo jiných dřevin. Kořenový systém je rozložen do plochy v horních vrstvách půdy a nemá hlavní (kulový) kořen. Proto bývá v monokulturách půda vyčerpaná a smrk často podléhá vývrátům. Také kvůli mělkému zakořenění má vyšší nároky na povrchovou vlhkost půdy i vzduchu, jinak další specifické nároky na půdu a geologické podloží nemá. Také je citlivější k vysokým teplotám, zato má dobrou mrazuvzdornost (Musil, Hamerník, 2007). Nejlépe se mu daří ve vyšších polohách, s ročními srážkami nad 700 mm. Ve středních polohách prospívá na severních svazích, v nížinách na dně údolí, kde je dostatečná vlhkost. Pro dobrý růst a vývoj potřebuje také své houbové symbionty (mykorhizu).



Smrk dominuje v boreálních lesích severní Evropy a subalpinských oblastech Alp a Karpat (Caudullo et. al, 2016). Přirozeně je rozšířen souvisle v severní, severovýchodní Evropě, a také ve střední, jihovýchodní Evropě, kde se vyskytuje pouze ostrůvkovitě. Výškově je přirozeným výskytem smrku stanoven rozpětím od 700 do 1 000 m n. m. (Musil a Hamerník, 2007). V severních oblastech svého přirozeného výskytu ho lze nalézt převážně v nižších nadmořských výškách již od 700 m n. m. a na jihu svého přirozeného rozšíření stoupá až do vyšších horských oblastí. Ovšem lesnický (jako hospodářská dřevina) byl rozšířen na značná území mimo původní (přirozené) rozšíření (Caudullo et. al, 2016).

V lesním hospodářství Střední Evropy se smrk uvádí jako jedna z nejdůležitějších produkčních dřevin a představuje pomyslnou oporu dřevařského průmyslu, zejména pro jeho příznivé vlastnosti při opracování. Nejčastější využití smrku je ve stavebním a papírenském průmyslu, truhlářství a nábytkářství, nebo k dalšímu využití, jako je těžba pryskyřice nebo využití smrku jako paliva (Úradníček, et. al, 2001). Také se dá kvalitní smrkové dřevo použít k výrobě hudebních nástrojů. K těmto účelům je však zapotřebí bez sukate dřevo s pravidelnými a úzkými letokruhy, které je označováno jako rezonanční výřezy.

### 3.1.1. Škodliví činitelé smrku

Působení škodlivých činitelů se nejvíce projevuje v podmínkách jeho nepůvodního rozšíření. A jelikož je jedním z jeho hlavních požadavků na prostředí dobré zásobení vodou, dochází na těchto nepůvodních stanovištích k výraznému zvýšení stresové hladiny jedince. Je to především z důvodu, že smrk je mělkokořenící dřevinou, což zhoršuje jeho schopnost dosáhnout na zásoby podzemní vody. Také kvůli mělkému zakořenění trpí na vývraty případně zlomy způsobené námrazou či těžkým sněhem. Tyto dřeviny jsou také náchylné na houbové onemocnění (Brůna et al., 2021) jako je kořenovník vrstevnatý (*Heterobasidion annosum*) nebo Václavka smrková (*Armillaria ostoyae*). Ačkoliv se nejedná o dřevinu náročnou na klima, je velmi citlivý vůči znečištění ovzduší především SO<sub>2</sub> (Úradníček, et al., 2001). Z hmyzích škůdců je nejnebezpečnější lýkožrout smrkový, ale škodí i jiné druhy kůrovců. V mladých porostech a porostech středního věku působí velké škody zvěř. Obecně se dá říct, že škodliví činitelé působí na smrk synergicky (Musil a Hamerník, 2007).

Škodliví činitelé se dají rozdělit na primární, kteří se obecně označují jako činitelé napadající zdravé jedince, mezi ně se například řadí: zlomy, polomy, vývraty, nedostatek vody, imise a další. Další skupinou jsou sekundární činitele. Tito činitelé napadají již oslabené jedince. Řadí se mezi ně především patogeny a hmyz. V mnoha případech

dochází k souběžnému napadení smrku patogeny a hmyzími škůdci. Podle článku Christiansen et al., 1987 dokonce je většina druhů kůrovců doprovázena houbami s modrou barvou, které interferují s interakcemi kůrovce a hostitelského stromu. Mezi hmyzem a houbami v mnoha případech dokonce dochází k symbióze (Kandasamy et al. 2019), kdy některá společenstva hub mohou broukům pomoci překonat obranné systémy hostitelských stromů (Paine et al., 1997). Symbiotické houby toho dosahují tím, že degradují smrkové toxiny a tím pomáhají vyčerpávat obranyschopnost stromů. Dále se podílejí na produkci broučí semiochemické látky a případně poskytují pro brouky výživu (Netherer et al., 2021).

### 3.2. Lýkožrouti na smrku

Mezi nejvýznamnější hmyzí škůdce smrku ztepilého v Evropě je v posledních desetiletích jednoznačně lýkožrout smrkový (*Ips typographus*). Ohniska kůrovce jsou závažným problémem zejména v sekundárních porostech, v nižších polohách (pod 800 m), mimo přirozený areál výskytu smrku ztepilého (Führer et al., 1996). Rychlý růst populace lýkožrouta často nastává po abiotickém oslabení porostu větrem, sněhovou pokrývkou, námrazou, suchem atd. (Seidl et al., 2016). Také bylo zjištěno, že míra útoku roste v závislosti na zvyšování letních teplot (Chinellato et al., 2014).

Další ohrožení pro smrkové porosty skýtá lýkožrout severský (*Ips duplicatus*, C.R. Sahlberg, 1836). Oba tyto lýkožrouti náleží do čeledi nosatcovití (*Curculionidae*). Stav kůrovců se v rámci Evropy v posledních desítkách let stále zvyšuje (Schelhaas et al., 2003; Seidl et al., 2014). Lýkožrout smrkový je dokonce dle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 76/2018 Sb. v platném znění, v § 3 klasifikován jako kalamitní škůdce. Z tohoto statutu vyplývají i některé konkrétní povinnosti pro vlastníka lesa při jeho sledování a hubení.

#### **Lýkožrout smrkový**

Lýkožrout smrkový (*Ips typographus*, Linnaeus, 1758) zaujímá velký areál v Evropě a Asii. Řadí se mezi nejvýznamnější hmyzí škůdce vázané na smrkové porosty ve střední Evropě (Zahradník et al., 2007). Jedná se o druh s intenzivní škodlivostí, který má tendenci k přemnožování. Tento druh nejčastěji napadá smrkové porosty starší 60 let, přičemž u stojících kmenů napadá téměř celý strom vyjímaje oddenkovou část, tzn. do 1 až 1,5 m výšky stromu. Při napadání preferuje již oslabené stromy, avšak při přemnožení napadá i zdravé jedince (Zahradník, Geráková 2010). Ve výjimečných případech napadá také borovici lesní (*Pinus sylvestris*) nebo modřín opadavý (*Larix decidua*) (Pfeffer et al., 1954). Základní obranou proti tomuto škůdci je primárně včasné vyhledání a zpracování již napadených stromů (Zahradník et al., 2007).

Jedná se o cca 4,2–5,5 mm velkého brouka (zobrazen na Obr. č. 2.), přičemž jeho velikost je variabilní, protože je značně ovlivněna kvalitou a množstvím potravy v larválním stádiu. Tělo brouka je válcovitého tvaru a tmavě hnědé až černé barvy. Za determinační znak tohoto druhu se považuje zadní část krovek, kterou tvoří prohloubenina osazená čtyřmi páry zoubků (Pfeffer et al., 1954), z nichž třetí pár shora je největší (Amann et al., 1991). Pohlavní dimorfismus není pouhým okem patrný, samice má více ochlupené čelo a štít (Modlinger et al., 2015). Požerek tohoto druhu je hvězdicovitý (tři až pět matečných chodeb na jednu snubní komůrku), matečné chodby jsou orientovány spíše podélně, snubní komůrka i matečné chodby zasahují do kůry a lýka, příp. i běle (Zahradník et al., 2007).



Obr. č. 2. *Ips typographus* s požerkem (Autor: M. Pražáková)

Kritickým faktorem stimulujícím rojení lýkožrouta je nárůst teploty (Doležal, Sehnal 2007). Pro určení tohoto i dalších důležitých fenologických projevů lýkožroutů se často využívá model PHENIPS. Tento model je založen na teplotě vzduchu, teplotě kůry, kumulaci stupňodní a předvídá sezónní dynamiky populací. Jarní rojení nastává v našich podmínkách koncem dubna a začátkem května (Pfeffer et al., 1954). Letní rojení probíhá v červenci až srpnu. V teplých letech a příznivých podmínkách mohou mít lýkožrouti v jednom roce i tři generace (Modlinger et al., 2015).

### **Symbiotické houby lýkožroutů**

Předpokládá se, že potřeba houbových symbiontů dřevokazným hmyzem může být připsána povaze substrátu, který má nízký obsah živin a vysoký obsah toxických látek. V tomto prostředí může být výběr symbiontů rozhodujícím faktorem pro přežití brouků, jelikož houboví symbionti napomáhají narušovat obranyschopnost hostitelských dřevin a také mohou dřevokaznému hmyzu sloužit jako zdroj potravy pro jejich potomky (larvy). Na oplátku brouci slouží houbám jako prostředek k průniku kůrou a tím jim umožní dostat se k lýku. Lýkožrout smrkový má úzkou vazbu s *ophiostomatoidními* houbami *Ascomycetes*, včetně rodů *Ophiostoma*, *Grosmannia* a *Endoconidiophora* (Kandasamy et al. 2019).

### 3.3. Postup napadení hostitelské dřeviny lýkožroutem

Kůrovci žijí ve složitém prostředí a jejich schopnost přežít je závislá nejen na jejich smyslech, ale také na mezidruhové interakce s rostlinami, zvířaty, houbami a dalšími mikroorganismy. U fytofágního hmyzu je nejvýznamnějším smyslem čich, díky kterému rozlišují pachy hostitele mezi ostatními stromy (Bruce, Pickett, 2011). K tomuto účelu mají kůrovci četné sensorické buňky (čichové senzily) specializované na detekci monoterpenů (MT), které jim napomáhají k nalezení vhodných hostitelů (Schlyter et al., 1987). Podčeleď kůrovci má své čichové senzily umístěné pouze na ventrální straně svých kyjovitých tykadel (Kandasamy et al. 2016).

Samotný postup invaze začíná tím, že hned po nalezení hostitelského stromu přilétají pionýrství brouci (samec nebo samice v závislosti na druhu u druhu studovaného v této práci (*Ips Typographus*) se jedná o samce), kteří vyhloubí snubní komůrky a začínají produkovat agregační feromony. Agregační feromony u *Ips Typographus* jsou tvořeny především *cis*-verbenolem, 3-methyl-2-buten-1-olem a ipsdienolem. Díky pionýrským jedincům a jejich produkci feromonů je zajištěna ostatním kůrovcům navigace k vhodným hostitelům. Tyto agregační feromony bývají z pravidla podporovány těkavými látkami, které uvolňují symbiotické houby (Kandasamy et al. 2016). Tyto přidružené ofiostomatoidní houby produkují feromonové složky a také pomáhají narušovat obranyschopnost napadeného stromu. Zároveň jsou houboví symbionti schopni detoxikovat terpeny a fenoly hostitelského stromu (Zhao et al. 2019a). I přesto jsou některé látky jako třeba limonen, myrcen a  $\Delta$ -3-karen pro brouky zvláště toxické a snižují tvorbu a délku chodeb a dokonce snižují i počet kladených vajíček. Kromě těchto terpenoidních sloučenin mohou být pro kůrovce toxické i mastné kyseliny (Erbilgin et al., 2017).

Kromě symbiotických vztahů mezi kůrovci a ofiostomatoidními houbami hrají významnou roli při kolonizaci i mikroorganismy. Mnoho kůrovců má složité a dynamické interakce s bakteriemi, kvasinkami a houbami (Davis et al., 2015).

### 3.4. Těkavé organické sloučeniny

Těkavé organické sloučeniny (VOC) jsou v přírodě všudypřítomné a emitují je všechny formy života (Lemfack et al., 2018). Mezi organismy s nejvyšší rozmanitostí VOC patří rostliny, jenž dokáží syntetizovat až desítky tisíc sloučenin, které tvoří podstatnou část biogenních uhlovodíků v atmosféře (Guenther et al., 2012). VOC mohou také hrát významnou roli při změně atmosférických zátěží (Fehsenfeld et al. 1992). Význam VOC ve fyziologii a ekologii rostlin byl však rozsáhle zkoumán teprve v posledních 10–15 letech a odhalil roli VOC vzájemné interakci rostlin s jinými

organismy a také jako reakci rostlin na biotický a abiotický stres ( Dudareva et al., 2004 ). Největší až 90% podíl VOC vstupujících do atmosféry, tvoří takzvané biogenní těkavé sloučeniny (Wang et al., 2006).

### 3.4.1. Biogenní těkavé organické sloučeniny

Jako biogenní prvky označujeme všechny prvky, které jsou obsaženy v živých soustavách. Vyskytují se ve sloučeninách, ve formě iontů a výjimečně volně jako například kyslík. Biogenní těkavé organické sloučeniny (BVOC) zahrnují široké spektrum látek, obvykle s výjimkou methanu ( $\text{CH}_4$ ), které jsou emitovány z přírodních zdrojů (Kesselmeier et al., 1999). BVOC se mezi sebou liší svým metabolickým původem a molekulárními strukturami. V literatuře zatím bylo definováno přibližně 1 700 BVOC emitovaných 90 různými rody rostlin (Knudsen a Gershenzon, 2006). Některé BVOC jsou běžně známé jako rostlinné hormony, které hrají roli v růstu, vývoji, reprodukci a obraně rostlin (Loreto, Schnitzler, 2010), ale také se jedná o látky, které umožňují komunikaci s jinými rostlinami a organismy (Peñuelas, Llusia, 2003).

Biogenní těkavé organické sloučeniny obsahují čtyři hlavní kategorie sloučenin: isopren ( $\text{C}_5\text{H}_8$ ), monoterpeny ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ ), jiné reaktivní VOC a jiné méně reaktivní VOC (Laothawornkitkul et al., 2009). BVOC přispívají k tvorbě sekundárního organického aerosolu (SOA) a hrají důležitou roli v oxidační kapacitě atmosféry (Waked et al., 2012). Emise BVOC rostlin se zvyšují v závislosti na abiotickém a biotickém stresu jako například vysoká teplota, nedostatek vody, napadení škůdci (hmyz, býložravci či houbové patogeny). Tyto stresory výrazně ovlivňují složení, množství emisí těkavých organických sloučenin (Netherer et al., 2021).

#### **Monoterpeny**

Monoterpeny (MT) jsou nejvíce emitované VOC z vegetace (Guenther et al., 1995) a významně tak přispívají k produkci ozonu v oblastech s vysokými antropogenními emisemi  $\text{NO}_x$  (Carter et al., 1994). Také MT dominují emisím BVOC z jehličnatých stromů, (Geron et al., 2000), toto množství je dokonce 10 % z celkové globální emise MT (Guenther et al., 1995). Naproti tomu je produkce seskviterpenů (SQT) jehličnatými stromy relativně nízká. MT jsou složeny ze dvou izoprenových jednotek, mají 10 uhlíků. Kromě příspěvku k atmosférické chemii hrají MT emitované rostlinami důležitou ekologickou roli, a to jako obranné sloučeniny proti houbovým a hmyzím nepřítelům, ale také mohou sloužit jako alelopatické látky či atraktanty opylovačů (Harborne et al., 1991).

Monoterpeny jsou přednostně uvolňovány druhy obsahujícími specializované orgány, jako jsou pryskyřné kanálky (Lerdau et al., 1991). Pryskyřné kanálky jsou v kůře umístěny axiálně, přičemž v jejich parenchymatických buňkách se hromadí fenolické

látky (Franceschi et al., 2005). Pryskyřičné kanálky se vyskytují u většiny našich jehličnanů s výjimkou jedle bělokoré (*Abies alba*), tisu červeného (*Taxus baccata*) a jalovce obecného (*Juniperus communis*). Emise MT jsou do značné míry spojeny s fotosyntézou, protože jejich tvorba je stimulována světlem což znamená, že klesá ve tmě a je inhibována v nepřítomnosti CO<sub>2</sub> ve vzduchu (Loreto et al., 1996).

### 3.4.2. Obranné mechanismy smrku

Obrana jehličnanů se vyvíjela pod mnohostranným abiotickým a biotickým selekčním tlakem po miliony let. Uvádí se, že je silně formována podmínkami prostředí, jako je světlo a teplota (Berini et al. 2018). Schopnost jehličnanů mobilizovat obranyschopnost může být narušena více stresory, zejména při současném výskytu biotických a abiotických faktorů (Hussain et al. 2020).



Obr. č. 3. Výron pryskyřice  
(Autor: M. Pražáková)

Smrk ztepilý se při obraně proti škodlivým činitelům často spoléhá nejen na konstitutivní, ale i indukovanou obranu. Pomyslnou první obrannou linii smrku tvoří kůra, která zabraňuje invazi svými fyzikálními vlastnostmi a chemickou toxicitou. Při proražení této ochranné linie dřevina rozpozná infekci či poranění a aktivuje svou indukovanou obranu, která zahrnuje tvorbu pryskyřice (Netherer et al., 2021) zobrazenou na Obr. č. 3.

Smrk ztepilý se také při své obraně proti kůrovcům nebo patogenům velmi často spoléhá na terpeny a fenoly, které jsou toxické nejen pro hmyz, ale také pro mikroorganismy. Při napadení mohou stromy zvýšit produkovanou koncentraci terpenů až stokrát, což může inhibovat kolonizaci kůrovce smrkového nebo houbovou infekci. (Zhao et al. 2011b).

Kromě toho, že strom metabolizuje terpeny a fenoly dochází i při stresu k produkci sloučenin odvozených od mastných kyselin a proteinů. Tyto proteiny se podílejí na mnoha procesech, jako je posilování stěn rostlinných buněk (Fossdal et al. 2007). Také bylo zjištěno, že konstitutivní fenolová diverzita a specifické fenolové sloučeniny zvyšují odolnost stromů proti ofiostomatoidním houbám, které kolonizují strom současně s kůrovcem (Zhao et al. 2019a).

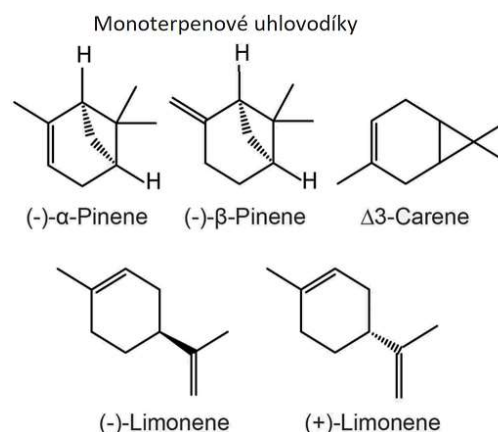
### 3.4.3. Emise těkavých látek napadených stromů

Stromy investují mnoho svého úsilí na produkci obraných sloučenin proti škodlivým činitelům. Mezi hlavní metabolity produkované smrkem spadají: terpenoidy, fenolické látky a některé sloučeniny odvozené od mastných kyselin a proteinů.

Smrk ztepilý syntetizuje oleoresin (pryskyřici), což je směs netěkavých diterpenů ( $C_{20}$ ) a těkavých monoterpenů (MT) (MT zobrazeny na Obr. č. 4.), ty slouží jako ochrana před napadením škodlivými organismy (Steinbrecher et al., 1997). Tato reakce podtrhuje význam terpenů jako potenciálních stresových markerů indikujících změny ve vnímavosti stromů k biotickému, ale i k abiotickému napadení.

Hlavní viditelnou obranou jehličnatých stromů proti kůrovcům je výron pryskyřice, což vede k vytvoření pevné ochranné zátky. Při polymerizaci této pryskyřičné zátky se do atmosféry uvolňují MT (Eller et al., 2013). Díky této obraně pomocí výronů pryskyřice se zvyšuje emise BVOC ze smrkových jehlic 5krát a emise z kůry se může až

zdvynásobit (Heijari et al., 2011). Je také známo, že tyto terpenoidní a fenolické látky produkované smrkovou kůrou a jehlicemi jsou důležité pro agregaci kůrovce, a tedy mají vliv na úspěšnost napadení. Množství a složení terpenů se mění podle umístění na kmenech což určuje umístění náletu lýkožrouta smrkového do podkorunové sekce (Führer et al. 1996). Erbilgin et al. (2017) uvádí, že MT  $\alpha$ -pinen produkovaný hostitelským stromem zvyšuje jeho atraktivitu pro lýkožrouta smrkového. Také bylo zjištěno, že konstitutivní fenolová diverzita a specifické fenolové sloučeniny zvyšují odolnost stromů proti ofiostomatoidním houbám, které kolonizují strom současně s kůrovcem (Zhao et al. 2019a).



Obr. č. 4. Monoterpeny emitované smrkem ztepilým (Neherer et al., 2021)

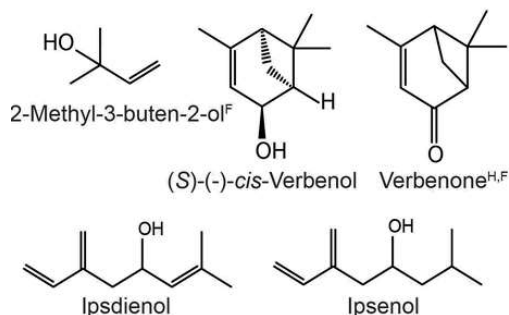
Koncentrace a rychlost emisí jsou v pozitivním i negativním smyslu silně ovlivněny podmínkami prostředí, jako je teplota nebo dostupnost vody (Ferrenberg et al. 2017), ale i genotypem stromů a typy pletiv (Schönwitz et al. 1990). Navíc pozorované směsi terpenů závisí na způsobu extrakce s rozdíly mezi těkavými látkami, které jsou přímo absorbovány z povrchu kůry nebo těmi které jsou extrahovány z floému pomocí organických rozpouštědel (Hietz, Baier 2005). Minoritní, ale ekologicky důležitou složkou emisí smrku jsou oxidované MT. U zdravých stromů jsou oxidované MT zastoupeny pouze ve stopovém množství. Tyto látky mohou být ekologicky významné jako feromonové složky mnoha druhů kůrovců (Schlyter et al. 1987).

Mezi nejvýznamnější organické látky emitované smrkem zteplým se řadí:

- a) Monoterpenové uhlovodíky:  $\alpha$  – pinen,  $\beta$  – pinen,  $\Delta^3$  – caren, limonen
- b) Okysličené monoterpeny: 1,8 cineol, isopinocampnon, pinocamphone, trans-4-thujanol, verbenon, camphor

#### 3.4.4. Feromony produkované lýkožroutem smrkovým při kolonizaci

Některý hmyz vyhledává vhodného hostitele čichem což nebylo I. typographus experimentálně dokázáno. Ips typographus ale přeměňuje rostlinné MT na feromony (viz



Obr. č. 5. Monoterpeny emitované Lýkožroutem smrkovým (Neherer et al., 2021)

přeměna  $\alpha$ -pinenu na *cis*-verbenol). Je také obecně známo, že množství emitovaných těkavých látek kůrovce je řádově mnohem méně než u hostitelské dřeviny. Proto se mnoho výzkumů zaměřuje na detekci BVOC napadeného stromu než na detekci látek produkované kůrovcem. Hlavní složkou samčích feromonů je 2-metyl-3buten-2-ol (MB) a *cis*-verbenol (jejich schématické

vzorce jsou zobrazeny na Obr. č. 5.). Produkce *cis* – verbenolu je závislá na koncentraci  $\alpha$  - pinenu v hostitelském stromu (Ramakrishnan et al., 2022). Důležitou roli při napadání stromu kůrovci hrají agregační feromony (Neherer et al., 2021).

Jelikož dochází k úzké interakci mezi lýkožrouty a houbami, kterou rovněž zprostředkovávají těkavé organické sloučeniny, které brouky buď přitahují nebo odpuzují (Modlinger et al., 2015). Kandasamy et al. (2016) se dokonce domnívá, že je tedy možné využít tyto sloučeniny k regulaci počtu kůrovců.



## Inhibitory lýkožrouta

Kromě agregačních feromonu se v porostu také vyskytují BVOC, které inhibují lýkožrouty. (Kandasamy et al., 2019). Tyto látky mají na lýkožrouty až repelentní účinky. Mezi tyto látky, které při vyšších koncentracích působí repelentně, se řadí limonen, 3-carene či 4-allylanisol. Tyto účinky mají i těkavé látky obsažené v kůře stromů, které se vyskytují v listnatých rostlinách, keřích a stromech jako *trans*-conophthorin (Zhang et al. 2003). Dokonce Byers et al. (1998) zjistili, že těkavé látky z březových listů (3-hexen-1 ol a 1-hexanol) snižují přitažlivost lýkožrouta smrkového k jejich agregačním feromonům. Dále sem patří osmiuhlíkaté alkoholy původem z hub, nebo látky produkované samotným smrkem a to především zmíněné oxidované monoterpeny *trans*-4-thujanol a 1,8-cineol (Jirosova et al., 2022). Kromě toho, že rostliny dokážou produkovat látky, které inhibují lýkožrouta smrkového, dokážou i produkovat látky jako camphor, pinocamphone a terpinen-4-ol, které lákají parazitoidy lýkožroutů (Kandasamy et al. 2016).

### 3.5. Techniky používané pro izolaci těkavých složek

Mezi techniky používané pro izolaci těkavých látek se používá: destilace, extrakce, mikroextrakce na pevnou fázi (SPME) a metoda head-space.

#### 3.5.1. Destilační techniky

Destilace je metoda oddělování kapalin v roztoku za použití rozdílů v bodech varu a za předpokladu, že se při teplotě varu nerozkládají. Při destilaci se kapalně látky vypařují a následnou kondenzací v chladiči se vrací zpět do skupenství kapalného. Destilace se skládá z několika kroků – dosažení bodu varu, sběr vzorku, čištění. Jako první se destiluje složka s nejnižší teplotou varu (těkavější látka). S toho vyplývá, že se látky destilují postupně podle zvyšujícího se bodu varu. Kapalina získaná destilací se nazývá destilát, neodpařená část destilačního zbytku. Mezi destilační techniky patří hydrodestilace a destilace vodní párou. Hydrodestilace je nejjednodušší a nejlevnější metoda destilace. Parní destilace je metoda destilace sloučenin, která se upřednostňuje při destilaci termolabilních sloučenin (Kumar et al, 2011).

Tato technika se také používá pro izolaci jednotlivých složek esenciálních olejů. Tyto oleje jsou složité směsi těkavých sloučenin, které jsou produkovány živými organismy. Tyto látky jsou těkavé, rozpustné v lipidech či organických nepolárních rozpouštědlech (např. hexan), nerozpustné ve vodě (Hüsni. et al, 2007). Vzhledem ke způsobu extrakce destilací z aromatických rostlin, obsahují esenciální oleje různé těkavé molekuly. Tudiž se jedná o směsi nasycených a nenasycených uhlovodíků, alkoholů, aldehydů, esterů, etherů, ketonů, oxidů, fenolů a terpenů (Kumar et al, 2011).

### 3.5.2. Extrakční technika

Extrakce neboli vyluhování je technika separace, která využívá rozdílné rozpustnosti jednotlivých složek směsi ve dvou vzájemně nemísitelných rozpouštědlech. Velkou výhodou tohoto procesu je, že dochází k izolaci tepelně nestálých látek. Extrakce se často provádí nejen za účelem separace, ale také za účelem zkoncentrování analytu z relativně velkého objemu fáze analytu do malého objemu extrakčního činidla. Také je obecným pravidlem, že extrakce je účinnější, když se provádí několikrát menšími dávkami rozpouštědla než jednou celým množstvím rozpouštědla. Extrakce se primárně dělí do dvou skupin, extrakce z kapaliny do kapaliny a extrakce z pevné fáze do kapaliny (Herchel, 2011).

Tato metoda se hojně používá k izolaci jedné nebo více látek z přírodních materiálů. Volí se co nejselektivnější rozpouštědlo, aby se v daném rozpouštědle rozpustila pouze požadovaná složka.

#### **Mikroextrakce tuhou fází**

Mikroextrakce tuhou fází (SPME – Solid Phase MicroExtraction) je modifikací extrakce tuhou fází. Metoda SPME byla poprvé představena na počátku devadesátých let minulého století profesorem Januszem Pawliszynským. Jedná se o metodu pro přípravu organických vzorků, která nepoužívá rozpouštědla.

Podstatou SPME je křemenné vlákno (zobrazeno na Obr. č. 6.) pokryté různými typy stacionární fáze, které se od sebe liší různou polaritou i sorpčními vlastnostmi (Procházková, 2002). Celý proces SPME je dvoustupňový a je založen na sorpci analytu. V prvním kroku dochází k rozdělení analytu mezi matici a stacionární fázi na vláknech a ve druhém následuje desorpce z vlákna přímo do analytického přístroje. Principem je expozice malého množství sorbentu, tj. extrakční fáze, nadbytkem vzorku (Ventura et al, 1995).



Obr. č. 6. SPME vlákno (Autor: M. Pražáková)

Hlavní výhodou mikroextrakce spočívá v úspoře rozpouštědel. Nevýhodou je limitovaný objem stacionární fáze vázané na vláknech (Ridgway et al, 2007).

### 3.5.3. Head-space analýza

Head-space technika je základní a velmi často používaná technika pro stanovení těkavých látek. Tato technika je výhradně spojená s plynovou chromatografií (GC). Je založena na rozdělení sledovaných analytů mezi netěkavou kapalinou nebo pevnou fází a parní fází nad kapalným nebo pevným vzorkem. Tato analýza může být provedena dvěma způsoby. Pokud je vzorek v rovnovážném stavu s plynnou fází v uzavřeném prostoru, potom se na vzorek používá statická head-space metoda, ale pokud nosný plyn proudí nad vzorkem pak se tento postup označuje jako dynamická head-space.

Při statické head-space technice je vzorek v nádobce temperován, dokud se nevytvoří rovnováha mezi kapalnou a plynnou fází. Poté je odebrán známý objem plynné fáze, který je převeden na chromatografickou kolonu. Důležitým aspektem pro přesnost tohoto uspořádání analýzy je využití automatických dávkovacích systémů, které výrazně zlepšují opakovatelnost metody. Při statické head-space analýze je pro vytvoření rovnováhy mezi fázemi důležitá vhodná kombinace teploty a doby temperování vzorku (Horák et al., 2012).

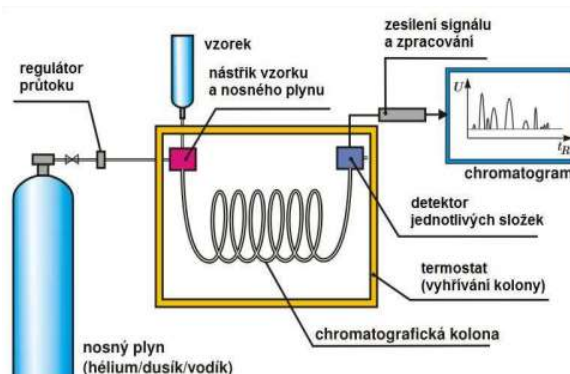
Při dynamické head-space technice je do prostoru nad vzorkem přiváděn inertní plyn, na rozdíl od statické head-space. Vzorek je kontinuálně extrahován inertním plynem, který následně prochází sorpční trubicí, kde jsou zachycovány uvolněné těkavé látky. Poté je sorbent v sorpční trubicí rychle zahřán a těkavé látky jsou uvolněny a převedeny na chromatografickou kolonu.

### 3.5.4. Plynová chromatografie

Chromatografie je analytická a zároveň separační metoda, která se používá k identifikaci a stanovení látek ve vzorku a současně k oddělení směsí s velmi podobnými vlastnostmi. Látky se rozdělují mezi dvě fáze: mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou) (Pavan, Raja, 2021).

Plynová chromatografie (GC) se poprvé objevila v článku AT Jamese a AJP Martina v roce 1952 a od té doby se stala jednou z nejdůležitějších a široce používanou analytickou technikou v moderní chemie. Plynová chromatografie se používá pro analýzu složek vzorků, které mohou být převedeny do plynné fáze bez toho, aniž by za vysoké teploty degradovaly (Mondello et al., 2008). Vzhledem ke své jednoduchosti, citlivosti a účinnosti při oddělování složek směsí je GC důležitým nástrojem v chemii. Je široce používán pro kvantitativní a kvalitativní analýzu směsí, pro čištění sloučenin.

Plynový chromatograf, který je znázorněn na Obr. č. 7., se skládá ze systému nosného plynu, systému vzorkování, separačního systému, detekčního systému a systému záznamu dat (Pavan, Raja, 2021). Princip této metody je založen na tom, že vzorek se dávkuje do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou. Jako nosný plyn se využívá tlaková lahev



Obr. č. 7. Schématický nákres plynového chromatografu (Zdroj: wikipedia.org.)

obsahující buď dusík, helium anebo argon. V koloně se složky separují na základě různé schopnosti, různě silně se poutat se stacionární fází. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek.

### 3.5.5. Elektronický nos

V moderním zemědělství a lesnictví se používá široká škála sensorových technologií k získání přesných informací o úrodě, půdě, počasí a podmínkách prostředí. Mezi tyto využívané technologie se řadí i používání elektronických nosů.

Elektronický nos (viz Obr. č. 8.) byl vyvinut k napodobení lidského nosu a jedná se o zařízení, které umožňuje zhodnotit zkoumaný vzorek a vytvořit jeho digitální záznam. Na rozdíl od lidského nosu, jehož sliznice obsahují sta tisíce až miliony receptorových buněk, elektronický nos obsahuje přibližně pět až sto chemických senzorů, které se mohou ručně vyměňovat v závislosti na tom kterou látku chceme za jeho pomoci detekovat (Stetter et al., 2001).



Obr. č. 8. Elektronický nos (Autor: M. Pražáková)

Elektronický nos, se liší od většiny ostatních přístrojů používaných k chemickým analýzám v tom, že jsou navrženy hlavně k rozpoznání směsí plynů jako celku bez identifikace jednotlivých chemických látek ve směsi (Wilson et al., 2013). Z tohoto důvodu se e-nosy obecně primárně nepoužívají k určení celého složení komplexních směsí plynů, ale jsou nejužitečnější pro určení zdrojů.

Elektronické nosy mají tři hlavní části: systém pro dodání vzorku, detekční systém a počítačový systém. Princip fungování elektronického a bioelektronického nosu je založen na biologických systémech. Mechanismy identifikace pachových látek implementované v elektronických signálech jsou velmi podobné těm, které se vyskytují v lidském nose. Jádrem umělého nosu je senzorová matrice (Wasilewski et al., 2017).

### 3.6. Výchozí data pro experiment

Jako zdroj informací pro výzkum bylo použito deset článků s podobnou tematikou jako je téma této diplomové práce. Tyto články jsou uvedené v Tab. č. 1. Z těchto článků byly pro výzkum klíčové především informace o typu a množství sorpčního materiálu, průtok vzduchu při sorpci a doba sorpce. Mezi články, které byly vybrány jsou zastoupené jak experimenty prováděné v terénu, tak i ty, které probíhaly pouze v laboratorních podmínkách. Veškeré experimenty popsané v člancích využívaly pro následnou analýzu plynovou chromatografii.

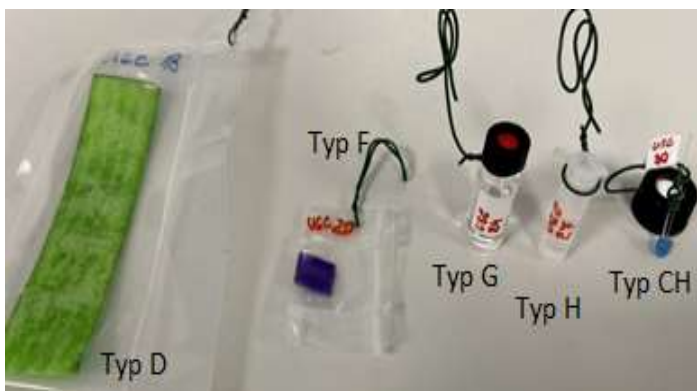
Tab. č. 1. Výchozí data pro experiment

Článek	Autor	Dřevina	Typ pokusu	Sorpční materiál (zrnitost)	Množství sorp. Materiálu	Průtok vzduchu	Doba sorpce	Rozpouštědlo	Metoda analýzy
Wet effluent diffusion denuder: The tool for determination of monoterpenes in forest	Křůmal K., et. al.	<i>Picea abies</i>	Terén, 5 m nad zemí	Tenax TA, (35/60)	200 mg	200 ml / min	10 min	n- heptan	GC-MS
Effect of bark beetle ( <i>Ips typographus</i> L.) attack on bark VOC emissions of Norway spruce ( <i>Picea abies</i> Karst.) trees	Ghimire R. P., et. al.	<i>Picea abies</i>	Terén, 1,3m nad zemí	Tenax-TA a Carbopack -B, (60/80)	100/100 mg	200 ml / min	60 min	Tepelná desorpce	GC-MS
Monoterpene emissions from bark beetle infested Engelmann spruce trees	Amin H. S., et. al.	<i>Picea engelmannii</i>	Terén, 0,5 až 1,5m nad zemí, <1 cm od stromu	Porapak Q	110 mg	400 ml / min	120 min	1,5 ml hexan	GC-MS
Volatiles released from individual spruce bark beetle entrance holes Quantitative variations during the first week of attack	Birgersson G. et. al.	<i>Picea abies</i>	Terén	Porapak Q, (80/100)	70 mg	20 ml / min	180 min	0,4 ml pentane	GC-MS
Volatile and within-needle terpene changes to Douglas-fir trees associated with Douglas-fir beetle ( <i>Coleoptera: Curculionidae</i> ) attack	Giunta, A. D. et. al.	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Laboratoř, náhodná větev (0,5m dlouhá) z 1,5m	HayeSep-Q	30 mg	500 ml / min	30 min	0,2 ml Methylenechloride	GC-MS
Seasonal variations and emission fluxes of monoterpene emitted from coniferous trees in East Asia: focused on <i>Pinus rigida</i> and <i>Pinus koraiensis</i>	Son Y. S. et. al.	<i>Pinus rigida</i> a <i>Pinus koraiensis</i>	Terén, náhodná větev	Tenax TA, (60/80) a Carbotrap, (20/40)	200 mg	100-200 ml / min	15 -60 min	Tepelná desorpce	GC-MS GC-FID
Optimisation of a thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry method for the analysis of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes	Helin A. et. al.	<i>Pinus sylvestris</i> a <i>Picea abies</i>	Laboratoř, náhodná větev	Tenax TA (60/80) a Carbopack B (60/80)		80 - 100 ml / min	10 min	Tepelná desorpce	GC-MS
Seasonal Variation in Amount and Composition of Monoterpenes Emitted by Young <i>Pinus pinea</i> Trees – Implications for Emission Modeling	Staudt, M. et. al.	<i>Picea abies</i>	Klimatizovaný skleník, náhodná větev	Tenax TA, (20/35) a Carbopack -B	125 mg	100 ml / min	30 min	Tepelná desorpce	GC-FID
Monoterpene emissions from Scots pine ( <i>Pinus sylvestris</i> ): Field studies of emission rate variabilities	Komenda M. et. al.	<i>Pinus sylvestris</i>	Terén, náhodná větev	Tenax TA, (60/80) a Carbotrap, (20/40)	50 - 100 mg	100 ml / min	60 min	Tepelná desorpce	GC-MS GC-FID
Acetone and monoterpene emissions from the boreal forest in northern Europe	Janson R. et. al.	<i>Pinus sylvestris</i> a <i>Picea abies</i>	Terén, větve	Tenax TA	200 mg	100 ml / min	12 - 40 min	Propan	GC-MS GC-FID

## 4. Metodika

Praktická část je zaměřena na optimalizaci metody head-space. Pro optimalizaci této metody byla zvolena směs biogenních těkavých organických látek, která napodobuje exhalaci stresovaných smrků ztepilých. V našem případě se jedná o stres způsobený napadením lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*). Jako subjekt zájmu pro experiment byly zvoleny broukem stresované stromy, kterým jsme se při výrobě odparníků snažili přiblížit jak složením, tak odparem. Odparníky jsou konstruovány tak, aby simulovaly BVOC stresovaného stromu, neboť v terénu je mnohem jednodušší detekce těchto látek než látek produkovaných lýkožroutem smrkovým. Tento fakt je způsoben tím, že se v ovzduší BVOC napadeného stromu nachází v mnohem větších koncentracích, než je BVOC emitované kůrovcem. Proto by mělo být snazší tento způsob aplikovat do praxe.

Měření pro tuto diplomovou práci ve většině případů probíhala v laboratorních podmínkách. Jako zdroje BVOC napadaného stromu byly při experimentech používány buď odparníky simulující exhalaci stromu (viz. Obr. č. 9.) nebo odparníky simulující exhaláty produkované lýkožroutem (2-methyl-3-buten-2-ol).



Obr. č. 9. Typy odparníků (Autor: B. Stříbrská)

Všechny tyto odparníky byly

s definovaným koeficientem odparu. Měření probíhalo také s 50 cm dlouhými výřezy smrku ztepilého (*Picea abies*). V těchto pokusech se využívalo jak zdravých, tak infestovaných (*zdravou kolonii Ipse*) smrkových výřezů.

### 4.1. Odparníky

Pro účely experimentů se používaly odparníky dvou typů, simulující BVOC emitované broukem (*Ips typographus*) a odparníky simulující BVOC produkované smrkem ztepilým „vůně lesa“. Pro simulaci BVOC produkované lýkožroutem smrkovým se použily kartelky (typ 730) naplněné do poloviny MB s uzavřeným víčkem.

Odparníky představující odpar BVOC napadeného smrku byly plněny roztokem komerčních látek monoterpenů (MT), které jsou zaznamenány v tabulce č. 2., kde je zachycen i jejich podíl v roztoku. Při těchto pokusech se vycházelo z poznatků Ghimire et al., 2016.

Tab. č. 2. BVOC napadeného smrku

Látka pro směs napadeného stromu (plocha 25 m <sup>2</sup> )	[% v g]
$\alpha$ -Pinene	46
Camphene	4,5
$\beta$ -Pinene	34,5
Myrcene	3
3-Carene	3,5
Limonene	8
Eucalyptol (1-8 cineole)	0,5

Před zahájením požadovaných měření metodou head-space proběhla optimalizace odparníků, pro docílení optimálního odparu. Pro optimalizaci požadovaného odparu BVOC simulující exhalaci smrku byly vyrobeny různé typy odparníků viz tabulka č. 3., tyto typy odparníků jsou znázorněny na Obr. č. 9. Od

každého typu odparníku byly pro měření vyhotoveny minimálně tři exempláře, abychom lépe mohli vyloučit případné abnormality odparníků vzniklé např. chybným utěsněním sáčku.

Pro zjištění skutečného odparu z jednotlivých odparníků byla použita gravimetrická analýza. Tato analýza probíhala od 12. 05. 2021 po dobu dvou týdnů, kdy se každý typ odparníku vážil v intervalu tří vážení za týden, aby se zjistil skutečný odpar. Z této analýzy nejlépe vyšel, a tudíž nejlépe simuloval odpar skutečně napadeného lesa, odparník typu D. Z tohoto důvodu se odparník typu D použil pro optimalizaci metody head-space v této diplomové práci.

Tab. č. 3. Konstrukce odparníků

Návrh	Folie	Rozměry houbičky (mm)	Množství roztoku (ml)	Poznámka	
A	Pytlík	0,15	17x75x2	2,5	-
B		0,15	22,6x75x2	3	-
C		0,1	17x52x2	1,5	-
D		0,18	21x94x2	5	-
E		0,18	17x75x2	2,5	-
F		0,18	10x10x2	0,25	-
G	Vialka	-	-	-	naplněna do 1/2, do víčka udělat díru
H	Cartelka (730)	-	-	-	naplněné do 1/2, víčko uzavřít
CH	Capilára	-	-	-	délka 4 cm, naplnit kapilárně, jednu stranu za špunt, roztok 1 mm od kraje



## 4.2. Postup při optimalizaci head-space analýzy

Jelikož je tato práce zaměřena na optimalizaci metody head-space, tak jsem se rozhodla tuto kapitolu rozčlenit na optimalizaci jednotlivých částí této metody, jako je optimalizace: kolonek, průtoku a v neposlední řadě množství a typ použitého rozpouštědla pro získání vzorku z kolonek.

### 4.2.1. Kolonky určené k měření

Pro optimalizaci byly použity jak kolonky vlastní výroby (Obr. č. 11.), tak i kolonky komerčně vyráběné (Obr. č. 10.). Kolonky vlastní výroby jsem vyrobila na základě článků, které jsou uvedeny v Tab. č. 1. kde jsou zachycena výchozí data pro experiment.

#### Používané kolonky

Na optimalizaci kolonek byly použity dva typy kolonek komerční výroby viz Tab. č. 4. Jednalo se o dva typy skleněných kolonek s rozměry 6 x 70 mm. Tyto kolonky se od sebe odlišovaly pouze v sorbentu a v jeho množství. Tyto komerční kolonky jsou znázorněny na Obr. č. 10. Komerční kolonky od firmy SKC Inc..



Obr. č. 10. Komerční kolonky (Autor: M. Pražáková)

Tab. č. 4. Specifikace komerčních kolonek

KOMERČNÍ KOLONKY			
Materiál kolonky	Separátor	Sorpční materiál	Množství
Skleněná trubice, rozměry 6 x 70 mm	FWW	Tenax TA, zrnitost 80 - 100	Dvě sekce 15 a 30 mg oddělené skelnou vatou
Skleněná trubice, rozměry 6 x 70 mm	FWW	Anasorb CSC, zrnitost 20 - 40	150 mg, utěsněné skelnou vatou

Mimo komerčně vyrobených kolonek byly pro experimenty vytvořeny kolonky vlastní. Specifikace těchto kolonek je znázorněna v Tab. č. 5. Tyto kolonky jsou zobrazeny na Obr. č. 11. Vlastní vyrobené kolonky. Jako sorbent byly použity tyto látky: Tenax TA, HayeSep a PoraPak. Použité sorbenty pro tuto studii byly od firmy Supelco Analytical Products. Všechny tyto sorbenty byly umístěny do teflonové trubičky utěsněné z obou stran vatou.



Obr. č. 11. Vlastní vyrobené kolonky (Autor: M. Pražáková)

Tab. č. 5. Specifikace vyrobených kolonek

VYROBENÉ KOLONKY			
Materiál kolonky	Separátor	Sorpční materiál	Množství
Teflonová trubička PTFE, průměr 2 x 4 mm, max. tlak 120 bar	Filtrační vata	Tenax TA, zrnitost 80 - 100	50 mg
	Sklenná vata		50 mg
			100 mg
	Filtrační vata	HayeSep, zrnitost 80 - 100	50 mg
	Sklenná vata		50 mg
			100 mg
	Filtrační vata	PoraPak, zrnitost 80 - 100	50 mg
	Sklenná vata		50 mg
			100 mg

### Získání vzorku biogenních těkavých sloučenin z kolonek

Z kolonek byly BVOC získávány prostřednictvím rozpouštědla (proces zobrazen na Obr. č. 12.). Množství a druh rozpouštědla je blíže popsán v kapitole 4.1.3. *Optimalizace množství rozpouštědla*.

#### Postup získávání vzorku BVOC z kolonek:

- Vymeme kolonku z pumpičky
- Umístíme kolonku nad vialku, do které budeme chtít umístit vzorek (viz. Obr. č. 12.)
- Kolonkou protlačujeme (za pomoci tekutého dusíku) určité množství hexanu, které zachytáváme do již zmíněné vialky
- Po výplachu kolonky vialku pevně uzavřeme, aby nedošlo k úniku BVOC a umístíme do mrazáku (-20 °C) případně rovnou analyzujeme plynovou chromatografií (GC analýza).



Obr. č. 12. Získávání vzorků z kolonek (Autor: M. Pražáková)

### Vymývání kolonek pro opětovné použití

Tento úkon probíhá tak, že každou kolonku vypláchneme 10 ml hexanu ( $C_6H_{14}$ ) a poté ještě 10 ml ethanolu ( $C_2H_5OH$ ) opět za pomoci tekutého dusíku. Takto vymytou kolonkou protlačujeme vzduch (cca 5 minut) a pak umístíme vymytou a profouklou kolonku do sušárny s přirozenou cirkulací na 10 až 15 minut při teplotě 100 °C. Poté ze sušárny kolonku vyjmeme a zabalíme do alobalu, aby nedocházelo k případnému znečištění.

#### 4.2.2. Měření průtoku a času

K optimalizaci průtoku při experimentech bylo použito osobní odběrové čerpadlo (pumpička) Pocket Pump Touch, série 220 – 1000 od firmy SKC (Science. Serving People.) viz Obr. č. 13.

Tato pumpička je výhodná z důvodu možnosti snadného nabíjení skrze standardní zásuvku (100, 240 V). Při plném nabití baterie vydrží několik hodin. Proto je tato pumpička vhodná i do terénu. Dalším důvodem pro volbu této pumpičky bylo to, že je vybavena dotykovou obrazovkou, díky čemuž se snadno obsluhuje. Dále je u této pumpičky možnost odloženého startu, což je výhodou hlavně při měření v terénu, kdy je potřeba čas na správné umístění a připevnění pumpičky.

##### Postup měření pumpičkou:

- Za pomoci teflonových trubiček připevníme kolonku, případně tandem kolonek (dvě kolonky propojené teflonovou spojkou) k pumpičce
- Poté na pumpičce nastavíme požadovanou dobu a průtok dle specifik jednotlivých pokusů (specifika jednotlivých pokusů jsou znázorněna v kapitole 5. *Výsledky a diskuse* v tabulkách)
- Pumpičku pevně umístíme tak, aby nedocházelo k pohybu jak pumpičky, tak kolonek a zapneme ji
- Po námi nastavené době se pumpička sama vypne a kolonka je připravena k proplachu hexanem a následné GC analýze



Obr. č. 13. Pocket Pump Touch (Autor: M. Pražáková)

#### 4.2.3. Stanovení rozpouštědla a jeho množství

Pro experimenty této práce byly jako rozpouštědlo zvažovány dvě látky. Jednalo se o pentan ( $C_5H_{12}$ ) a hexan. Obě tato rozpouštědla se řadí mezi nepolární, což znamená že jsou tvořena nepolárními molekulami, tedy molekulami s nulovým dipólovým momentem a nízkou dielektrickou konstantou. Po bedlivém zkoumání jsme jako rozpouštědlo pro pokusy vybrali hexan. Hlavním důvodem, proč jsme tak učinili je fakt, že hexan má nižší těkavost, což je v našem případě nezanedbatelnou výhodou. Taky pro potřeby experimentu byl do hexanu přidáván vnitřní standard, aby se usnadnila následná analýza vzorků.

Hexan je uhlovodík se sumárním chemickým vzorcem  $C_6H_{14}$ . Jedná se o bezbarvou tekutinu jejíž teplota varu je  $69\text{ }^{\circ}C$  a hustota  $0,655\text{ g/cm}^3$ . Během experimentů bylo množství tohoto rozpouštědla měněno, aby se docílilo optimálního množství.

### 4.3. Metody získávání vzorků

Do diplomové práce bylo zvoleno více možností odběru vzorků. Jednalo se o odběr vzorků pod zvonem, z větrného tunelu, ze zdravého i napadeného smrkového výřezu a také byl použit odběr vzorků z falešného stromu. U všech těchto metod bylo použito osobní odběrové čerpadlo Pocket Pump Touch. BVOC byly při experimentech vypouštěny z předem definovaných odparníků (typ odparníku D), které simulovaly BVOC emitované smrkovým porostem. Při některých měřeních byly používány i BVOC emitované lýkožroutem smrkovým (MB). Tyto látky ze zmíněných odparníků byly za předepsaných podmínek (podmínky definované v kapitole 5. výsledky a diskuse) zachytávány na (jak komerční, tak i na námi vyrobené) kolonky, které již byly přesněji definované v předchozích částech.

#### 4.3.1. Odběr vzorků pod zvonem

Pro experiment byl zvolen skleněný zvon o objemu tři litry. Tento zvon byl položen na Petriho misku, na níž jsme před tím umístili požadovaný odparník. Zvon byl umístěn tak, aby plně přiléhal (za pomoci parafilmu) na misku a nedocházelo tak k úniku či případné kontaminaci BVOC z okolí zvonu (viz Obr. č. 14.).

Při odběru vzorků tímto způsobem je nutné jako první provést čištění. Čištění se provádí z důvodu případné kontaminace z okolního prostředí místnosti.

#### Popis čištění zvonu před zahájením experimentu:

- Na vstupní hadičku, která je znázorněna na Obr. č. 14. pod označením 1 umístíme námi vyrobenou kolonku z tenaxem (50 mg, zrnitost 80-100).
- Na výstupní hadičku, která je znázorněna na Obr. č. 14. pod označením 2 připojíme pumpičku (Pocket Pump Touch serie), která vzduch ze zvonu nasává.
- Poté na pumpičce nastavíme průtok  $200\text{ ml/min}$  a dobu trvání nastavíme na 15 min. Tím docílíme toho, že veškerý vzduch pod zvonem se přefiltruje přes Tenax a tím se eliminuje případná kontaminace vzduchem mimo zvon ( $200\text{ ml/min} * 15\text{ min} = 3\ 000\text{ ml} = 3\text{ l}$ ).

### Průběh samotného experimentu

Po vyčištění vzduchu ve zvonu se na výstupní hadičku nasadí požadovaná kolonka definovaná v kapitole 4.2.1. *Kolonky určené k měření* (případně tandem kolonek => 2 kolonky propojené teflonovou hadičkou), na kterou chceme zachytávat BVOC z odparníku. Potom na pumpičce opět nastavíme požadovaný průtok

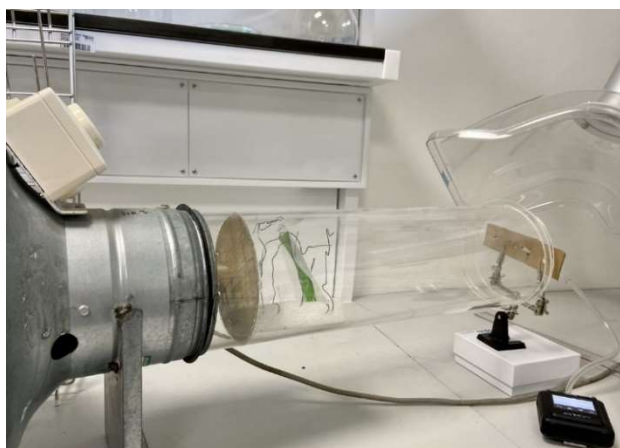


Obr. č. 14. Odběr vzorků pod zvonem (Autor: M. Pražáková)

a dobu trvání dle specifikací jednotlivých pokusů. Po uplynutí této doby vyjmeme kolonku (případně tandem) a pro získání vzorku z kolonek použijeme postup popsany v kapitole 4.1.1. *Kolonky určených k měření*. Poté je vzorek hotov a připraven k GC analýze.

### 4.3.2. Odběr vzorků z větrného tunelu

Pro tento experiment byl zapotřebí větrný tunel (viz Obr. č. 15.), u kterého lze nastavovat proud vzduchu. Při měření byly opět použity již zmiňované odparníky s definovaným odparem MT produkované smrkem ztepilým a u některých pokusů byl použit i odparník s MB jako simulace napadení brouka. Při měření je vhodné provádět experiment u digestoře, která odvádí vyfukovaný vzduch z tunelu pryč, aby nedocházelo k zbytečné kontaminaci místnosti. Také je velmi důležité, aby se místnost mezi jednotlivými experimenty vyvětrala a nedocházelo tak ke zkreslení výsledku zapříčiněné předchozím měřením.



Obr. č. 15. Odběr vzorků z větrného tunelu (Autor: M. Pražáková)

#### Postup odběru vzorků:

- Nejprve se do větrného tunelu umístí požadovaný typ (typ D, případně MB) a množství odparníků dle přesných parametrů prováděného experimentu (viz. Tabulky v kapitole 5. *Výsledky a diskuse*)
- Pomocí anionometru se v tunelu nastaví požadovaný proud vzduchu (dle specifikace experimentu), poté tunel necháme několik minut běžet, aby se odpar ustálil
- K výstupu z tunelu umístíme pumpičku (viz Obr. č. 15.) s požadovaným typem a množstvím kolonek (definované v předchozí části diplomové práce)
- Pumpičku nastavíme na požadovaný průtok a čas, a za pumpičku do dostatečné vzdálenosti umístíme rameno digestoře, aby odváděla přebytečný vzduch obsahující BVOC z místnosti a nedocházelo tak ke zkreslování měření
- Po uplynutí nastaveného času se pumpička vypne a vyjmeme kolonku či tandem kolonek.
- Pro získání BVOC z kolonek použijeme postup popsany v kapitole 4.2.1. *Kolonky určené k měření*. Poté je vzorek hotov a připraven na GC analýzu.

#### 4.3.3. Odběr vzorků ze smrkového výřezu

K tomuto odběru vzorků byl zapotřebí 50 cm vysoký smrkový výřez. Tento výřez byl odebrán ze smrku ztepilého a před experimentem ponechán 24 hodin při pokojové teplotě (18 – 22 °C).

#### Postup odběru vzorku:

- Výřez byl umístěn do nekontaminované místnosti, s teplotou 24°C ±1°C
- Na výřez, nebo do předem definované vzdálenosti od výřezu se umístily aluminiové boxy (o rozměru: 20,1 x 10,9 x 4,9 cm) zobrazené na Obr. č. 16.
- Do vrchní strany boxu se umístí kolonka či tandem kolonek, které se napojí na pumpičku s přednastaveným průtokem 100 ml/min a časem 10 min
- Po uplynutí 10 min se pumpička vypne a vyjmeme kolonku či tandem kolonek
- Pro získání vzorku BVOC z kolonek použijeme postup popsany v kapitole 4.2.1. *Kolonky určené k měření*. Poté je vzorek hotov a připraven na GC analýzu.



Obr. č. 16. Odběr vzorků z výřezu (Autor: M. Pražáková)

#### 4.3.4. Odběr vzorků z falešného stromu

Při tomto odběru vzorků byly opět použity odparníky typu D s definovaným odparem. Na tento experiment byly použity jak odparníky s BVOC simulující smrk ztepilý, tak i odparníky s MB simulující BVOC produkované lýkožroutem smrkovým. Pokus s falešným stromem jsme prováděli jak v laboratorních podmínkách (viz Obr. č. 17.) tak i venku (viz Obr. č. 18.), abychom vyzkoušeli, jaký vliv bude mít dynamické venkovní prostředí na odběr vzorků. Při vnitřním pokusu byly použity dva odparníky typu D a jeden odparník s MB. Zatím co u venkovního pokusu bylo použito pět odparníků typu D.



Obr. č. 17. Falešný strom v lab. podmínkách (Autor: M. Pražáková)



Obr. č. 18. Venkovní falešný strom (Autor: M. Pražáková)

#### Postup odběru vzorků:

- Nejprve si připravíme požadované množství odparníků typu D s definovaným odparem v našem případě se jednalo o 5 ks (z označení 35+36+39+40+41)
- Umístíme odparníky do předem definované vzdálenosti od sebe v našem případě 5 cm
- Připravíme pumpičku (s požadovaným průtokem 100 ml/min na dobu 10 min) a umístíme ji do definované výšky nad falešný strom (nad odparníky), jak je znázorněno na Obr. č. 18.
- Po uplynutí nastaveného času pumpičku vypneme, poté vyjmeme kolonku či tandem kolonek pro získání vzorku BVOC z kolonek, kdy použijeme postup popsany v kapitole 4.2.1. *Kolonky určené k měření*. Poté je vzorek hotov a připraven na GC analýzu.

#### 4.3.5. Odběr vzorků za pomoci SPME vlákna

Kromě metody head-space jsme vyzkoušeli i jinou techniku pro izolaci BVOC. Jednalo se o metodu mikroextrakce. Toto měření primárně sloužilo k tomu abychom si ověřili, zda exhalace měřené metodou head-space jsou srovnatelné s jinými metodami. Metoda mikroextrakce tuhou fází byla použita na odběr vzorků ze smrkového výřezu. Měření probíhalo při více opakováních jak ze zdravého, tak i z napadeného smrkového výřezu. Jednalo se o výřez, který byl vysoký 50 cm viz Obr. č. 19. Odběr vzorků probíhal za pomoci SPME vlákna, přičemž se měřila exhalace  $\alpha$ -pinenu a 2-methyl-3-buten-2-olu (MB). Na experimenty byla použita dvě SPME vlákna s označením Vlákno 2 a Vlákno 3. Tyto experimenty byly založeny jak na optimalizaci, tak na sorpčním čase (viz tabulky v kapitole 5.7.5. *Měření za pomoci SPME vlákna*).



Obr. č. 19. smrkový výřez (Autor: M. Pražáková)

#### Postup odběru vzorků:

- Výřez byl umístěn do nekontaminované místnosti, kde byl ponechán přes noc při pokojové teplotě (18 – 22 °C).
- Při experimentech s napadeným výřezem byla předem (24 hodin předem) na výřez umístěna zdravá a prosperující kolonie lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*)
- Následující den experiment probíhal při teplotě 24 °C  $\pm$  2 °C, v předem stanoveném odstupu od výřezu a v předem stanovené době odběru
- Na výřez byly umístěny aluminiové misky stejně tak, jako je znázorněno na Obr. č. 14. Tyto misky ovšem nezůstávaly pouze připevněné na výřezu, ale v závislosti na typu pokusu se umísťovaly do různých vzdáleností, jak je vidět na Obr. č. 22
- Do aluminiových misek se vkládalo SPME vlákno viz Obr. č. 20
- Vlákno se vysunulo (2 cm) z pouzdra na dobu určenou pro experiment,
- Po odběru probíhala analýza za pomoci plynové chromatografie



Obr. č. 20. SPME vlákno (Autor: M. Pražáková)



#### 4.4. Analýza naměřených vzorků

Analýza za pomoci plynové chromatografie (GC) probíhá tak, že se vzorek nastříkne do nástřikové komory (injektoru), kde se odpaří a ve formě par je unášen nosným plynem do kolony. Složky ze vzorku se sorbují na začátku kolony ve stacionární fázi a pak desorbují čerstvým přicházejícím nosným plynem. Nosný plyn unáší složky vzorku postupně ke konci kolony a proces se neustále opakuje. Každá složka vzorku postupuje kolonou svou vlastní rychlostí závislou na distribuční konstantě.

Výsledkem této analýzy je grafické znázornění, které se nazývá chromatogram. Pro získání chromatogramu jednotlivých naměřených vzorků je nutné nejprve sestavit takzvané kalibrační křivky.

V našem případě probíhala analýza naměřených vzorků za pomoci plynového chromatogramu typ Agilent 8890 GC systém (Agilent Technologies, USA), který je zobrazen na obrázku č. 21. Tento přístroj je opatřen třemi kolonami. Jedná se o kolonu 1. (Agilent 123 7032 DB-WAX:), kolonu 2. (Agilent 19091S-413: 1 HP-5ms):

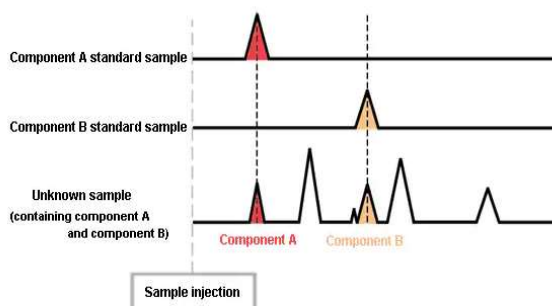


Obr. č. 21. Plynový chromatograf typ Agilent 8890 (Autor: M. Pražáková)

kolony mají délku 30 m, průměr 320  $\mu\text{m}$  a sílu vnitřního filmu 0,25  $\mu\text{m}$  a kolonu 3. Agilent Ret. Gap o velikosti 1.5 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0  $\mu\text{m}$ . Poté proudící plyny pokračovaly do plamenoionizačního detektoru FID o teplotě 300  $^{\circ}\text{C}$ . Teplotní program pro pec byl 50  $^{\circ}\text{C}$  (2 min) s gradientem 7  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do 200  $^{\circ}\text{C}$ . Celkový čas chromatografické analýzy byl 23,429 minut. Jako nosný plyn bylo použito helium s celkovým průtokem 47 ml/min.

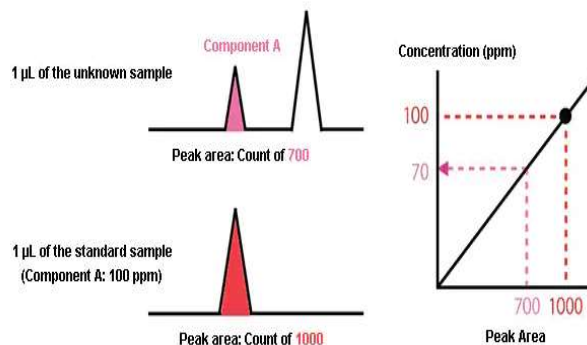
##### 4.4.1. Získávání dat z plynové chromatografie

Proces získávání dat se dělí na kvalitativní a kvantitativní analýzu. Nejprve probíhá kvantitativní analýza. Jedinou kvalitativní informací u GC analýzy je retenční čas. A pro tuto analýzu je (v zásadě) vyžadován standardní vzorek, aby bylo možné určit o jaký vrchol se jedná. Znázornění tohoto



Obr. č. 22. Kvalitativní analýza (Shimadzu Exelent in science)

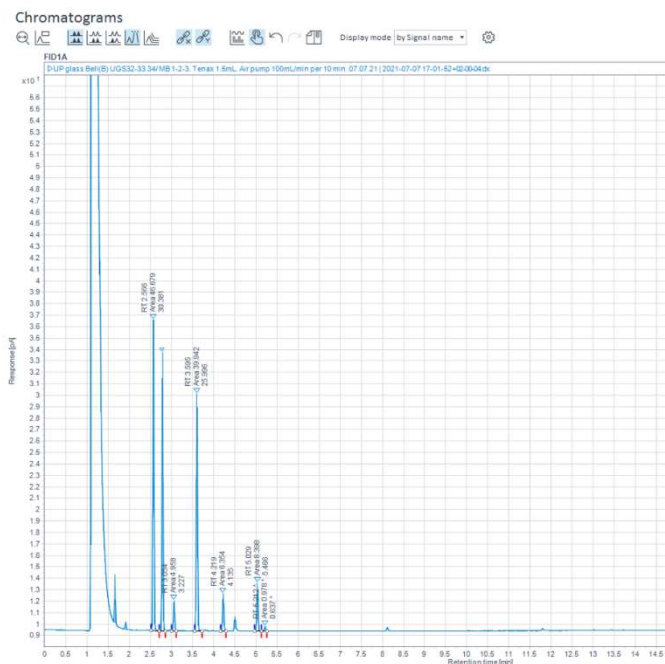
určování vrcholů je znázorněno na Obr. č. 22. Po kvalitativní analýze (když už víme jaký vrchol odpovídá jaké látce) přichází na řadu kvantitativní analýza. V GC chromatogramu jsou velikosti a plochy vrcholů úměrné množství složky v detektoru. I pro tuto analýzu je vyžadován standardní vzorek. Postup kvantitativní analýzy je znázorněn na Obr. 23.



Obr. č. 23. Kvantitativní analýza (Shimadzu Exelent in science)

#### 4.4.2. Chromatogram

Chromatogram (zachycen na Obr. č. 24) je soubor obsahující informace o průběhu chromatografie. Jedná se o grafické znázornění, kde se na ose x nachází retenční čas (min) a na ose y intenzita signálu detektoru (mV).

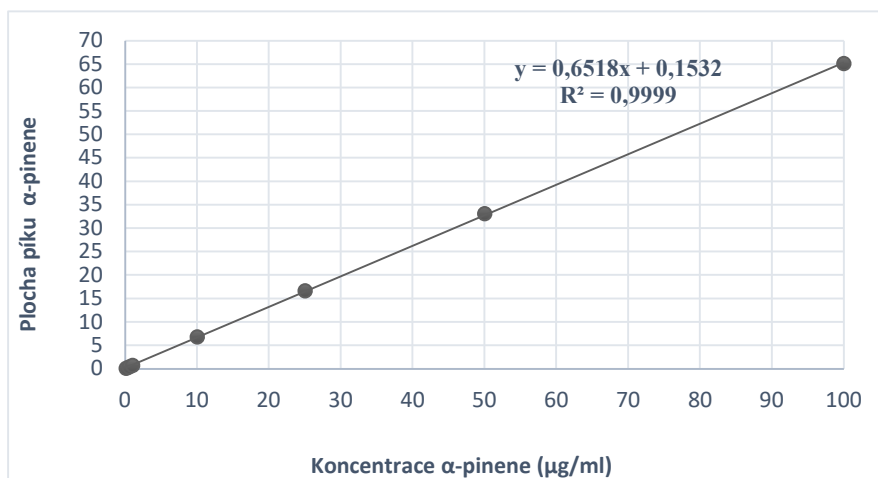


Obr. č. 24. Chromatogram – Vzorek ze 07. 07. 2021, skleněný zvon, odparníky 32+33+34+MB, odběr 10 min s průtokem 100 ml/min na kolonku z tenaxem, proplach 1500 µl hexanu.

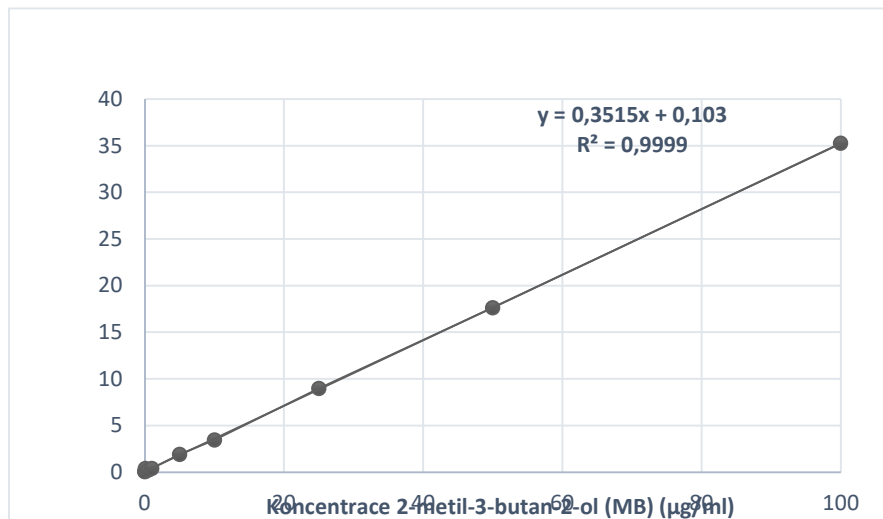
#### 4.4.3. Kalibrační křivky

Kalibrační křivka je graf vytvořený experimentálním způsobem, přičemž koncentrace roztoku je vynesena na osu x a pozorovatelná proměnná je vynesena na osu y. Křivka je konstruována měřením koncentrace a absorbance několika připravených roztoků, nazývaných kalibrační standardy. Jakmile je křivka vynesena do grafu, může být koncentrace neznámého roztoku určena jeho umístěním na křivku na základě jeho pozorovatelné proměnné. Data pro sestavení kalibrační křivky byla získána z GC-fidu.

Na příložených excelových grafech (graf č. 1. a graf č. 2.) jsou znázorněny dvě kalibrační křivky, které byly v této práci použity pro zjištění množství zachycených látek (v tomto případě  $\alpha$ -pinenu a MB) při head-space analýze.



Graf č. 1. Kalibrační křivka  $\alpha$ -pinenu pro metodu head-spece



Graf č. 2. Kalibrační křivka 2-methyl-3-butan-2-olu pro metodu head-space

#### 4.4.4. Statistická analýza naměřených vzorků

Pro analýzu naměřených vzorků byla použita analýza rozptylu. A protože je v této práci zkoumán vliv jednoho faktoru na jednu proměnou, jde o jednofaktorovou analýzu rozptylu (ANOVA). Tato analýza je zobecněnou analogií případu zjišťování rozdílů průměrů mezi dvěma nezávislými skupinami pomocí nepárového t-testu. Jedná se tedy o zjišťování rozdílů průměru mezi více skupinami prostřednictvím výpočtu testovacího kritéria F. Pro tuto práci byla statistická analýza zhotovena v počítačovém programu Statistika 13.5. Na základě této analýzy se stanoví zda jsou zkoumaná data signifikantní ( $p < 0,05$ ) či nikoli.

#### **Pro vytvoření sloupcových grafů v této práci bylo vždy zapotřebí:**

1. Nejprve si stanovit celkový průměr pokusů, které budeme chtít porovnávat.
2. Poté se stanoví standardní odchylka pro jednotlivá měření. Jedná se o směrodatnou odchylku výběru, což je míra rozptýlení hodnot od průměrné (střední) hodnoty.
3. Dále vypočítáme standardní chybu průměru (SEM) jako druhou odmocninu standardní odchylky. Tento výsledek je ve sloupcových grafech znázorněn jako takzvané chybové úsečky v obou směrech.
4. Nakonec ze zmíněných chybových úseček a z hodnoty  $p$  určíme, zda se jedná o statisticky významné výsledky ( $p < 0,05$ ) či nikoli ( $p > 0,05$ ).

## 5. Výsledky a diskuse

Tato studie byla zaměřena na optimalizaci metody sběru biogenních těkavých organických látek (BVOC) především pomocí metody head-space. Práce zachycuje a vyhodnocuje poznatky o metodě head-space a možnosti jejího využití při hledání kůrovcem napadených stromů. Hlavním přínosem této studie bylo vyzkoušet, zda je možné tyto poznatky uvést do praxe tak, aby sloužily k časně detekci napadených stromů a tím se zrychlila lokalizace těchto stromů pro následnou asanaci. Tato časná detekce stromů by mohla významně pomoci při přemnožování kalamitních škůdců.

Analýza všech vzorků probíhala za pomoci GS analýzy obvykle bezprostředně po změření (u SPME vždy). Pouze v případech, kdy měření probíhalo mnohem rychleji než analýza, byly naměřené vzorky (na dobu nezbytně nutnou) pevně uzavřeny a uloženy do mrazáku (-20 °C), aby nedocházelo k znehodnocování vzorků zapříčiněné odpařováním BVOC. Výstupem GC analýzy je chromatogram. Z kterého získáme za pomoci kalibrační křivky viz graf č. 1 a 2 po proměření různých koncentrací vynesných oproti plochám píků rovnice přímek  $y = 0.6518x + 0.1532$  pro  $\alpha$ -pinen, a  $y = 0.6518x + 0.1532$  pro methylbutenol.

Dosažením plochy píku  $\alpha$ -pinenu nebo methylbutenolu o neznámé koncentraci po výplachu ze sorpčních systému se získala koncentrace výpočtem  $x$ .

### 5.1. Optimalizace odparníků

Při výrobě odparníků, které jsme používali pro optimalizaci metody, jsme vycházeli z článku Ghimire et al., 2016. Dle tohoto článku bylo zvoleno složení a poměr látek v odparnicích. Pro optimalizaci odparníků byla zvolena gravimetrická analýza.

#### 5.1.1. Gravimetrická analýza odparníků

Pro tuto analýzu bylo zhotoveno více typů odparníků, které jsou detailně popsány v metodice v kapitole 4.1. *Odparníky*. V tabulkách (Příloha č. 2. a příloha č. 3.) jsou zaznamenány hodnoty šetření jednotlivých typů odparníků. Ke všem těmto typům jsou vyhotoveny i grafy (Příloha č.1.), které znázorňují úbytky hmotností jednotlivých typů odparníků. Z této analýzy vyšel nejlépe odparník typu D (Obr. Č. 9). Jeho odpar se nejvíce blížil skutečným exhalacím smrkového lesa a jeho exhalace byly v průběhu šetření konstantní, tudíž nedocházelo k výkyvům odparu. Tento odparník byl vyhotoven z folie o tloušťce 180  $\mu$ m a celulózové podložky (rozměry: 21x94x2mm) naplněné 5 ml roztoku BVOC (od firmy Acros) dle zmíněného článku.

Při výpočtu přesných odparů hrají významnou roli nejen dny měření, ale i hodiny. Proto se při měření zaznamenávalo nejen datum, ale i hodina potažmo minuta měření. Kromě toho, že gravimetrické šetření bylo prováděno za účelem zjištění neoptimálnějšího typu odparníku, tak se provádělo i u všech ostatních odparníků, které byly používány pro optimalizaci metody head-space. Tyto odpary (úbytky vah) jsou znázorněny v tabulkách (příloha č. 2.).

### 5.1.2. Vliv počtu odparníků na sorpci BVOC

Pro experimenty, které byly mířeny na vliv počtu měřených odparníků se prováděly jak pod skleněným zvonem, tak ve větrném tunelu. Pro tyto analýzy byly v obou případech použity normované odparníky typu D (odparníky a jejich odpary v dnech měření v příloze č. 4.). Při všech měřeních zacílených na tuto problematiku byly použity komerční kolonky z Tenaxem, které byly umístěny do tandemu (dvě kolonky za sebou propojené teflonovou hadičkou). Bližší specifikace těchto měření jsou umístěna v Tab. č. 8. Pro analýzu naměřených výsledků se použila metoda GS, přičemž byly zkoumány hodnoty těchto komponent:  $\alpha$ -pinene, Camphene,  $\beta$ -pinene, Carene, Myrcene, Limonene, 1,8 cineole (eukalyptol).

Tab. č. 6. Vliv počtu odparníků na záchyt BVOC

Datum měření	Způsob	Proud vzduchu	Odparník	Kolonka	Průtok	Čas	Čištění vzduchu	Proplach
18.06.2021	zvon 3 l		10	Tenax tandem	200 ml/min	15 min	50 mg tenax	1000 $\mu$ l hexane
			11					
			10+11+12					
			32+33+34+MB 3x					
29.06.2021	Větrný tunel	0,3 m/s	18	Tenax tandem	100ml/min	10 min	Aktivní uhlí	1000 $\mu$ l hexane
		0,3 m/s	18+17					
		0,3 m/s	18+17+16					

Dne 18. 06. 2021 proběhlo měření pod skleněným zvonem (specifika měření v Tab. č. 6.). Kompletní výsledky z měření jsou zobrazeny v tabulkách v příloze č. 4. Z těchto tabulek byla sestavena pro přehlednost Tab. č. 7, ze které se dá vyčíst i odpar průměrného odparníku typu D v den provádění tohoto pokusu. Dále je z tabulky patrné, že odparník 10 se liší v odparu od odparníku 11. Tento rozdíl je zřejmě způsoben tím, že i při gravimetrické analýze vykazoval odparník č. 10 vyšší odpar než odparník č. 11. Dle očekávání je také vidět nárůst zachycených BVOC při použití více odparníků, jak je zachyceno v této tabulce.

Tab. č. 7. Souhrnné výsledky měření pod skleněným zvonem (18. 06. 2021)

Odparník		10+11+12	10	11	Odpar průměrného odparníku mg/den	Průměr 10 a 11 odparníku	Směrodatná odchylka 10 a 11 odparníku
Tenax	Složení	Množství* µg					
1	α-pinene	1563,26	257,87	106,95	385,62	182,41	75,46
2	MB	656,44	222,37	248,37	225,44	235,37	13,00
3	Camphene	60,66	9,93	5,00	15,12	7,46	2,47
4	β-pinene	386,59	74,41	32,88	98,78	53,64	20,77
5	3-carene	57,37	20,68	4,51	16,51	12,59	8,09
6	Myrcene	32,69	42,20	2,12	15,40	22,16	20,04
7	S-limonene	62,20	69,82	4,22	27,25	37,02	32,80
8	1-8 cineole	12,29	3,48	2,61	3,68	3,05	0,44
	<b>Celkem</b>	<b>2819,21</b>	<b>697,28</b>	<b>404,04</b>	<b>784,11</b>	<b>550,66</b>	<b>146,62</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

Pokus se stejným účelem (specifika šetření v Tab. č. 6.) se prováděl i při odběru vzorků z větrného tunelu (výsledky jsou v tabulkách v příloze č. 5.). Tento experiment se prováděl dne 29. 06. 2021. Z těchto měření jsme získali stejné závěry, jako při měření pod zvonem, a to že při vyšším počtu odparníků dochází k vyššímu zachytu BVOC a že důležitou roli hraje i odpar vyplývající z gravimetrického šetření (souhrnná data z tohoto měření jsou umístěna v Tab. č. 8.).

Tab. č. 8. Souhrnné výsledky měření z větrného tunelu (29. 06. 2021)

Odparník		18 +17 +16	18+17	18	Odpar průměrného odparníku mg/den
Tenax	Složení	Množství* µg			
1	α-pinene	12,49	8,35	1,95	3,80
3	Camphene	0,57	0,43	0,08	0,18
4	β-pinene	2,73	1,72	0,32	0,80
5	3-carene	7,32	0,19	0,11	1,27
6	Myrcene	6,72	0,15	0,10	1,16
7	S-limonene	9,32	0,14	0,00	1,89
8	1-8 cineole	0,00	0,07	0,00	0,04
	<b>Celkem</b>	<b>39,15</b>	<b>11,05</b>	<b>2,56</b>	<b>9,132</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

## 5.2. Optimalizace sorpčního materiálu a množství kolonek pro odběr

Při pokusech jsme vycházeli z již publikovaných článků, které se zaměřovaly na stejnou problematiku (přesné specifikace z těchto článků z nichž jsme vycházeli jsou v kapitole 3.6. *Výchozí data pro experiment*).

### 5.2.1. Určení množství kolonek

Již při zahájení prvních experimentů jsme vyzkoušeli zapojit dvě kolonky za sebe do takzvaného tandemu, abychom zjistili, zda jedna kolonka dokáže zachytit veškeré BVOC nebo zda některé tyto látky projdou kolonkou a zachytí se až na druhou. Při všech měřeních, která jsou důkladně rozepsána v přílohách je patrné, že část BVOC proniká skrz první kolonku a je zachycena až na druhé kolonce. Proto veškerá měření probíhala s tandemovým zapojením kolonek.

### 5.2.2. Porovnání vlastních kolonek s komerčně vyráběnými

Na základě, již zmiňovaných článků jsme vyzkoušeli více sorpčních materiálů. Dle článku Amin H. S., et. al. (2012) a Birgersson G. et. al. (1989) jsme použili jako sorpční materiál látku Porapak Q (zrnitost 80-100). Dále dle článku Giunta, A. D. et. al. (2016) jsme vyzkoušeli sorpční materiál HayeSep (zrnitost 80-100). Dalším sorpčním materiálem, který byl testován je Tenax, tento materiál byl použit například v pracích od Křůmal K., et. al. (2016), Son Y. S. et. al. (2015), Janson R. et. al. (2001). Kolonky s těmito sorbenty byly zhotoveny dle postupu popsáno v kapitole 4.2.1. *Optimalizace kolon* určených k měření. Všechny tyto kolonky vlastní výroby byly porovnány s komerčně vyrobenými (od firmy SKC Inc.). Tato optimalizace sorbentu se prováděla na smrkovém výřezu. Postup odběru vzorků je rozepsán v kapitole 4.3.3. *Odběr vzorků ze smrkového výřezu* a bližší specifikace pokusů jsou zaznamenány v tabulce č. 10.

Tab. č. 9. Specifika měření při optimalizaci sorpčního materiálu

Datum měření	Způsob	Kolonka	Průtok	Čas	Proplach
23.06.2021	zdravý výřez	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	600 µl hexane
		50 mg Tenax			
		50 mg Porapak			
		50 mg Hayesep			
	20 cm od výřezu	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	600 µl hexane
		50 mg Tenax			
		50 mg Porapak			
		50 mg Hayesep			



Měření zacílené na porovnání vlastních a komerčních kolonek se provádělo na zdravém smrkovém výřezu dne 23. 03. 2021. U kolonek naší výroby byly použity jako sorpční materiály: Tenax, Porapak a Havesep od firmy Supelco, Inc (bližší popis kolonek v kapitole 4.2.1. *Kolonky určené k měření*). Tento sorpční materiál byl umístěn v teflonové hadičce za pomoci filtrační nebo skelné vaty. Při testech s těmito kolonkami bylo zjištěno, že lépe funguje skelná vata. Protože při použití filtrační vaty docházelo buď k ucpávání kolonky, nebo naopak k jejímu vyfukování, případně k vymývání sorbentu z kolon. I přes značné úsilí s optimalizací množství této filtrační vaty se nepodařilo tento problém vyřešit. Proto jsme pro experimenty, které jsou znázorněny v Tab. č. 9. použili pouze kolonky se skelnou vatou.

Na základě výsledků z těchto měření, které jsou zobrazeny v Příloze č. 6. jsme se rozhodli pro další experimenty používat výhradně komerční kolonky (popis kolonek v kapitole 4.2.1 *Kolonky určené k měření*). Hlavním a nezanedbatelným důvodem pro volbu komerčně vyrobených kolonek byl fakt, že i přesto, že kolonky byly vyráběny ze stejných komponent tak se mezi sebou značně lišily. Rozdílly se projevovaly jak v propustnosti, tak i možném výplachu sorbentu. Vymývání sorbentu bylo patrné na úbytku hmotnosti kolonek, neboť byly kolonky před a po experimentu váženy.

### 5.2.3. Porovnání dvou komerčně vyráběných kolonek

Při tomto šetření docházelo k porovnání dvou komerčně vyráběných kolonek (bližší specifikata měření jsou v Tab. č. 10.). Jednalo se kolonky se sorpčním materiálem Tenaxem a o kolonky se sorpčním materiálem Anasorbem. Tyto kolonky se od sebe lišily sorpčním materiálem. Jednalo se o kolonky od společnosti SKC Inc. Bližší specifikata kolonek jsou uvedena v Tab. č. 4..

Tab. č. 10. Specifika měření při optimalizace komerční kolonky

Datum měření	Způsob	Proud vzduchu	Odparník	Kolonka	Průtok	Čas	Čištění vzduchu	Proplach	Poznámka
29.06.2021	Větrný tunel	0,3 m/s	18+17	Tenax tandem	100ml/min	10 min	Aktivní uhlí	1000 µl hexane	
		0,3 m/s	18+17+16						
		0,3 m/s	18+17	Anasorb tandem					
		0,3 m/s	18+17+16						
30.06.2021	Větrný tunel	0,3m/s	32+33+34	Tenax tandem	100ml/min	10 min	Aktivní uhlí	1000 µl hexane	spodní kolonka dva proplachy
		0,3 m/s	32+33+34	Anasorb tandem					
01.07.2021	Větrný tunel	0,3 m/s	34+35+36+MB 3x	Anasorb tandem	100ml/min	10 min	Aktivní uhlí	1500 µl hexane	spodní kolonka dva proplachy
				Tenax tandem					
			MB 3x	Anasorb tandem					
				Tenax tandem					

Měření cílené na porovnávání dvou komerčně vyráběných kolonek probíhalo ve dnech od 29.06. do 01.07. 2021. Všechny tyto pokusy se prováděly ve větrném tunelu. Jednotlivé specifikace těchto měření jsou umístěna v Tab. č. 10.. Výsledky jednotlivých měření jsou znázorněny pro přehlednost v Tab. č. 11. (Celistvé naměřené hodnoty příloha č. 5.). Na základě získaných výsledků byla určena jako optimální komerční kolonka pro experimenty kolonka se sorpčním materiálem Tenaxem, neboť u tohoto sorbentu je patrný vyšší záchyt BVOC.

Tab. č. 11. Výsledky měření při porovnávání komerčních kolonek

Den měření	29.06.2021				30.06.2021		01.07.2021			
Odporník	18+17		18+17+16		32+33+34		34+35+36+3xMB		3xMB	
Kolonka	Tenax	Anasorb	Tenax	Anasorb	Tenax	Anasorb	Tenax	Anasorb	Tenax	Anasorb
Složení	Množství* µg				Množství* µg		Množství* µg			
1 α-pinene	8,35	1,30	12,49	42,73	5,59	2,55	4,86	27,86	0,31	0,00
2 MB	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	2,70	0,69	0,36
3 Camphene	0,43	0,15	0,57	4,89	0,62	0,22	0,34	0,99	0,00	0,00
4 β-pinene	1,72	1,01	2,73	30,62	4,30	2,04	0,86	1,33	0,00	0,00
5 3-carene	0,19	0,10	7,32	1,82	0,84	0,43	0,22	0,12	0,00	0,00
6 Myrcene	0,15	0,14	6,72	0,60	1,05	0,15	0,14	0,13	0,00	0,00
7 S-limonene	0,14	0,00	9,32	1,53	2,62	1,05	0,43	0,36	0,00	0,00
8 1-8 cineole	0,07	0,00	0,00	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Celkem</b>	<b>11,05</b>	<b>2,7</b>	<b>39,15</b>	<b>82,63</b>	<b>15,02</b>	<b>6,44</b>	<b>8,05</b>	<b>33,49</b>	<b>1</b>	<b>0,36</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

### 5.3. Optimalizace průtoku a času sorpce

U optimalizace průtoku a délky sorpce za pomoci osobního odběrného čerpadla (pumpičky), jsme se snažili nalézt způsob, při němž by byl dobrý záchyt BVOC v co nejkratší době sorpce. Tento cíl je důležitý především pro případný odběr v terénu a využití metody v praxi, protože kdyby délka sorpce byla stejná, jako například v článku od Birgersson G. et. al. (1989) 180 min., nebo v článku Amin H. S., et. al. (2012) 120 min., bylo by velmi obtížné až přímo nemožné udržet stejné podmínky při vzorkování (teplota, směr a síla větru ...).

Při prvním pokusu této optimalizace prováděné pod skleněným zvonem (objem zvonu 3 l) jsme stanovili průtok pumpičky 200 ml/min na dobu 15 min. Tyto hodnoty jsme zvolili, protože za tuto dobu a při tomto průtoku dojde k úplné výměně vzduchu pod zvonem (objem zvonu = objem přečerpaného vzduchu). Tyto hodnoty měly význam především při měření pod zvonem, proto jsme se u dalších metod rozhodli hodnoty snížit. Na základě měření jsme stanovili jako optimální průtok 100 ml/min po dobu 10 min. a tím jsme dospěli ke stejnému zjištění jako Helin A. et. al. (2019).

## 5.4. Optimalizace průtoku vzduchu ve větrném tunelu

Optimalizace průtoku vzduchu ve větrném tunelu probíhala od 24. 06 do 29. 06. 2021. Tento pokus byl založen na zjištění optimálního průtoku pro nejlepší sběr BVOC a zároveň, aby proud vzduchu věrohodně simuloval průtok vzduchu nad smrkovým porostem za standartních bezvětrných podmínek. Specifikace měření jsou umístěna v Tab. č. 12.

Tab. č. 12. Specifikace měření při optimalizaci průtoku vzduchu větrným tunelem

Datum měření	Způsob	Proud vzduchu	Odparník	Kolonka	Průtok	Čas	Čištění vzduchu	Proplach	Poznámka
24.06.2021	Větrný tunel	1,5 m/s	18	Tenax tandem	100 ml/min	10 min		600 µl hexane	
			19						
			20						
			27						
			23						
			29						
28.06.2021	Větrný tunel	0,8 m/s	18	Tenax	100 ml/min	10 min	Aktivní uhlí	600 µl hexane	2 proplachy
		0,4 m/s	18						
29.06.2021	Větrný tunel	0,3 m/s	18	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	Aktivní uhlí	1000 µl hexane	

Již první den tohoto měření přinesl mnoho poznatků týkajících se optimalizace průtoku vzduchu a defacto i celé metody měření ve větrném tunelu. Souhrnná data těchto měření jsou uvedena v příloze č. 5. a stručný přehled s porovnáním je znázorněn v Tab. č. 13. V této tabulce si můžeme hned na první pohled všimnout, že v první den měření (průtok tunelem 1,5 m/s) došlo k nízkým, až nulovým záchytům BVOC. Při bližším prostudování podmínek experimentu jsme usoudili, že možnou příčinou nízkého zachytu BVOC může být: 1. vysoký průtok vzduchu větrným tunelem, 2. velká plocha, kterou proud vzduchu vychází ven z tunelu (20 cm), 3. špatné odvětrávání místnosti, proto docházelo ke kontaminaci místnosti z předchozích měření.

Tab. č. 13. Výsledky měření při optimalizaci průtoku vzduchu větrným tunelem

Průtok vzduchu tunelem		1,5 m/s								0,8 m/s	0,4 m/s	0,3 m/s
Odparník		18	19	20	23	27	29	Průměr	Směrodatná odchylka	18	18	18
Tenax	Složení	Množství* µg								Množství* µg		Množství* µg
1	α-pinene	1,50	1,68	0,93	0,28	0,55	0,52	0,91	0,52	2,29	2,87	1,95
3	Camphene	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,49	0,08
4	β-pinene	0,22	0,32	0,14	0,00	0,00	0,00	0,11	0,12	0,51	2,78	0,32
5	3-carene	0,11	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,05	0,21	0,5	0,11
6	Myrcene	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,1
7	S-limonene	0,13	0,14	0,12	0,00	0,00	0,00	0,07	0,07	0,12	0,18	0,00
	<b>Celkem</b>	<b>1,96</b>	<b>2,25</b>	<b>1,39</b>	<b>0,28</b>	<b>0,55</b>	<b>0,52</b>	<b>0,52</b>	<b>0,52</b>	<b>3,25</b>	<b>6,82</b>	<b>2,56</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

V následujících dnech jsme tyto nedostatky odstranili a následující měření, počínaje měřením od 28. 06. 2021 již probíhalo za těchto pozměněných podmínek (viz Tab. č. 12.). Snižovali jsme průtok tunelem tak, abychom ho optimalizovali, což se nám povedlo a optimální průtok vzduchu jsme stanovili na 0,3 m/s. Tento průtok vzduchu by měl také korespondovat se skutečným prouděním vzduchu nad porostem za běžných bezvětrných podmínek. Dále jsme zmenšili plochu, kterou vzduch opouští tunel na 5 cm (z původních 20 cm). Zároveň jsme za probíhající experiment umístili digestoř, abychom snížili případnou kontaminaci místnosti pro další pokusy. Další změnou bylo, že jsme při pokusech začali používat filtr (z aktivního uhlí) k čištění vzduchu, který vchází do tunelu, aby se zabránilo zkreslení dat.

## 5.5. Optimalizace rozpouštědla

Při optimalizaci rozpouštědla jsme zvažovali pentan, který byl používán v experimentech Birgersson G. et. al. (1989), ale po řádném prostudování jeho vlastností jsme od něj, hlavně kvůli vysoké těkavosti upustili. Další možností skýtal hexan, který je stejně jako předchozí látka zařazen mezi nepolární rozpouštědla. Jeho výhodou oproti pentanu je jeho nižší těkavost, proto jsme ho použili pro pokusy. Hexan jako rozpouštědlo byl použit i v článku Amin H. S., et. al. (2012).

### 5.5.1. Optimalizace množství rozpouštědla

Pokusy zaměřené na optimalizaci množství rozpouštědla probíhala od 28.06 do 01.07.2021. Tyto experimenty byly prováděny ve větrném tunelu již za optimálního průtoku vzduchu tunelem, který činí 0,3 m/s. Specifikace měření jsou uvedeny v Tab. č. 14.

Tab. č. 14. Specifikace měření při optimalizaci množství rozpouštědla

Datum měření	Způsob	Proud vzduchu	Odparník	Kolona	Průtok	Čas	Čištění vzduchu	Proplach	Poznámka	
28.06.2021	Větrný tunel	0,3 m/s	18	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	Aktivní uhlí	600 µl hexane		
			18+17+16							
29.06.2021			18					1000 µl hexane		
			18+17+16							
30.06.2021			3xMB					1000 µl hexane		2x proplach spodní kolony
01.07.2021			3xMB					1500 µl hexane		

Z výsledků měření, které jsou zobrazeny v Tab. č. 15. je znatelné, že při výplachu větším množstvím rozpouštědla dochází ke zvýšení BVOC získaných z kolonek. Při všech těchto pokusech probíhalo sorbování na tandem komerčních kolonek se sorbentem Tenax. Detailnější znázornění naměřených výsledků je v příloze č. 5.

K optimální hodnotě množství rozpouštědla, které jsme stanovili na 1500 µl. jsme dospěli tím, že při pokusech s 1000 µl jsme u druhé kolony (v tandemu) provedli ještě jeden proplach a zjistili jsme, že i ve druhém proplachu jsou patrné hodnoty BVOC. Proto jsme navýšili množství na 1500 µl a pokus opakovali. Při tomto pokusu již nebyly v druhém proplachu druhé kolony žádné stopy po přítomnosti BVOC, z čehož jsme usoudili, že další navyšování množství hexanu na proplach není nutné.

Tab. č. 15. Výsledky měření při optimalizaci množství rozpouštědla

Odparník		18		18+17+16		3x MB	
Proplach hexane		600 µl	1000 µl	600 µl	1000 µl	1000 µl	1500 µl
Tenax	Složení	Množství* µg	µg	Množství* µg	Množství* µg	Množství* µg	Množství* µg
1	α-pinene	0,84	1,95	0,62	12,49	0,00	0,31
2	MB	0,00	0,00	0,00	0,00	1,43	0,69
3	Camphene	0,00	0,08	0,00	0,57	0,00	0,00
4	β-pinene	0,37	0,32	0,19	2,73	0,00	0,00
5	3-carene	0,00	0,11	0,09	7,32	0,00	0,00
6	Myrcene	0,00	0,10	0,00	6,72	0,00	0,00
7	S-limonene	0,00	0,00	0,00	9,32	0,00	0,00
	Celkem	1,21	2,56	0,90	39,15	1,43	1,00

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

## 5.6. Vliv vzdálenosti odběru vzorků na zachycení BVOC

Při tomto šetření (ze smrkového výřezu) jsme se snažili zjistit, zda má na odběr vzorků vliv vzdálenost sorpce od zdroje exhalace BVOC (specifikace těchto měření je umístěna v Tab. č. 16.). Výsledky měření jsou zaznamenány v Tab. č. 17. Dle očekávání jsme zjistili, že při zvyšující se vzdálenosti od zdroje BVOC se jejich záchyt snižuje.

Tab. č. 16. Specifikace měření při optimalizaci vzdálenosti odběru vzorků

Datum měření	Způsob	Kolona	Průtok	Čas	Proplach
23.06.2021	zdravý výřez	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	600 ul hexane
	20 cm od výřezu	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	600 ul hexane
01.11.2021	napadený výřez	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	1500 ul hexane
	30 cm od napadeného výřezu	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	1500 ul hexane

Tab. č. 17. Výsledky měření při různých vzdálenostech od výřezu

Výřez		Zdravý		Napadený	
Vzdálenost od výřezu		Na výřezu	20 cm od výřezu	Na výřezu	30 cm od výřezu
Tenax	Složení	Množství* µg		Množství* µg	
1	α-pinene	5,56	2,10	1,07	0,25
2	MB	1,16	0,00	0,08	0,03
3	Camphene	0,00	0,00	0,63	0,72
4	β-pinene	0,86	0,48	0,05	0,21
5	3-carene	0,30	0,08	0,31	0,00
6	Myrcene	0,00	0,00	0,02	0,05
7	S-limonene	0,18	0,00	0,02	0,00
8	1-8 cineole	0,58	0,00	0,24	0,38
	<b>Celkem</b>	<b>8,64</b>	<b>2,66</b>	<b>2,42</b>	<b>1,64</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

## 5.7. Získané hodnoty při optimálním měření

Dle našich měření vyšlo najevo jak by měl vypadat optimální odběr vzorku. Jedná se o vzorek, který je odebrán na tandem komerčních kolonek se sorpčním materiálem Tenaxem, přes kterou je sorbován vzduch 100 ml/min po dobu 10 minut. Z provedených měření vyplývá, že nejvhodnější je vzorek získaný proplachem 1500 µl hexanu.

### 5.7.1. Měření pod zvonem

Dne 07.07. 2021 jsme změřili dva vzorky (specifikace v pokusů v Tab. č. 18.), s optimálními podmínkami, které jsme stanovili při optimalizaci ve větrném tunelu (výsledky těchto měření jsou umístěny v příloze 5.). Tyto výsledky byly porovnány s výsledky z 18.06.2021. Z tohoto srovnání je patrné, že záchyt BVOC z 18.06.2021 byl mnohem vyšší, i když vezmeme v potaz rozdílnost použitých odparníků. Na základě toho bylo zjištěno, že optimální podmínky, které jsme stanovili pro odběr ve větrném tunelu jsou rozdílné oproti optimálním podmínkám pro měření pod zvonem.

Tab. č. 18. Specifika optimalizovaných měření pod zvonem

Datum měření	Způsob	Odparník	Kolonka	Průtok	Čas	Čištění vzduchu	Proplach
18.06.2021	Zvon 3 I	10+11+12	Tenax tandem	200 ml/min	15 min	50 mg tenax	1000 ul hexane
07.07.2021	zvon 3 I	32+33+34	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	50 mg tenax	1500 ul hexane
		32+33+34+MB 3x					

### 5.7.2. Měření ve větrném tunelu

Nejvíce pokusů pro optimalizaci metody head-space proběhlo při měření ve větrném tunelu, neboť tento způsob lépe simuluje přírodní podmínky než třeba metoda odběru vzorků pod skleněným zvonem. Z tohoto důvodu poznatky, které byly získány z této metody jsme následně aplikovali i na měření smrkového výřezu a pak i na odběr vzorků z falešného stromu. Data z měření touto metodou jsou detailně rozepsána v příloze č. 5. a přehled specifik těchto pokusů je zobrazen v Tab. č. 19.

Tab. č. 19. Specifika optimalizovaných měření ve větrném tunelu

Datum měření	Způsob	Proud vzduchu	Odparník	Kolonka	Průtok	Čas	Čištění vzduchu	Proplach	Poznámka
01.07.2021	Větrný tunel	0,3 m/s	34+35+36+MB 3x	Anasorb tandem	100ml/min	10 min	Aktivní uhlí	1500 ul hexane	spodní kolonka dva proplachy
				Tenax tandem					
			MB 3x	Anasorb tandem					
			35+34+MB	Tenax tandem					
07.07.2021	větrný tunel	0,3 m/s	37+36+35 22	Tenax tandem	100ml/min	10 min	Aktivní uhlí	1500 ul hexane	
08.07.2021	větrný tunel	0,3 m/s	40 +41	tenax tandem	100 ml/min	10 min	aktivní uhlí	1500 ul hexane	

### 5.7.3. Měření smrkového výřezu

Dne 01. 11. 2021 probíhalo měření na napadeném smrkovém výřezu. Přesná specifika experimentu jsou zobrazena v Tab. č. 20. a popis postupu je rozepsán v kapitole 4.3.3. Odběr vzorků ze smrkového výřezu.

Tab. č. 20. Specifika optimalizovaných měření smrkového výřezu

Datum měření	Způsob	Kolonka	Průtok	Čas	Proplach
01.11.2021	napadený výřez	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	1500 ul hexane
	30 cm od napadeného výřezu	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	1500 ul hexane

V tento den (01. 11. 2021) a na stejném výřezu se prováděl i odběr vzorků za pomoci SPME vlákna, proto je v tabulce zapsáno i z jaké strany byly vzorky z výřezu odebrány, jelikož se tento fakt zapisoval i u měření s SPME vlákna. Rovněž byl odběr vzorků prováděn ve stejném odstupu od výřezu, jako byl nastaven u metody SPME. Veškerá data naměřená v tento den jsou znázorněna v Tab. č. 21. (pořadová čísla pokusů jsou zapsána římskými číslicemi).

Tab. č. 21. Měření ze dne 01. 11. 2021 napadený výřez

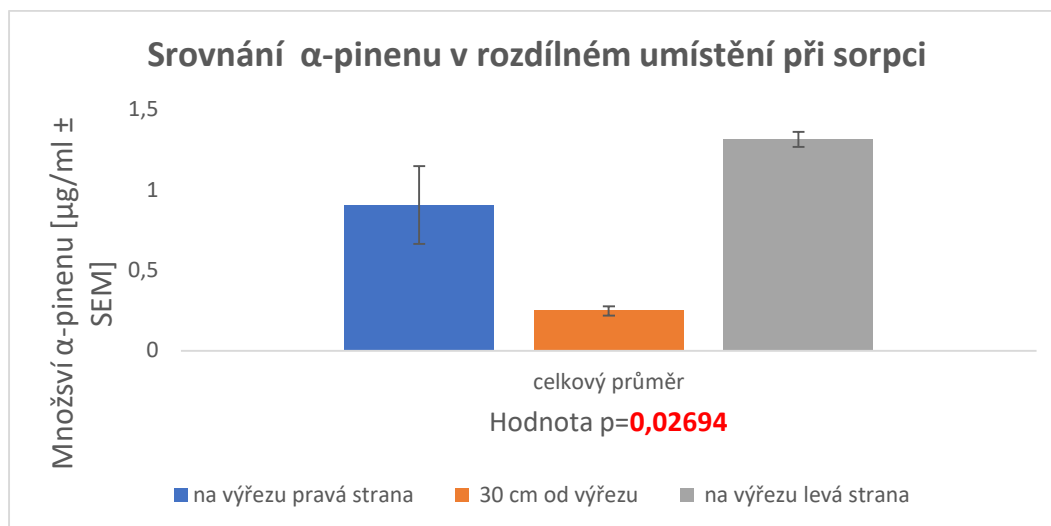
Napadený výřez	Pravá strana výřezu						Levá strana výřezu								
	Přímo na výřezu			30 cm od výřezu			Přímo na výřezu			30 cm od výřezu					
Složení (Množství* µg)	I	II	III	Ø	Směr. odchyl	I	II	III	Ø	Směr. odchyl	I	II	III	Ø	Směr. odchyl
1 α-pinene	1,20	1,17	0,35	0,91	0,37	0,29	0,27	0,18	0,25	0,04	1,38	1,25	1,32	0,06	0,06
2 MB	0,00	0,00	0,16	0,05	0,07	0,00	0,08	0,00	0,03	0,04	0,24	0,00	0,12	0,12	0,12
3 Camphene	0,63	0,65	0,63	0,64	0,01	0,57	0,79	0,80	0,72	0,10	0,59	0,63	0,61	0,02	0,02
4 β-pinene	0,00	0,00	0,09	0,03	0,04	0,19	0,08	0,35	0,21	0,10	0,15	0,00	0,08	0,08	0,08
5 3-carene	0,06	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,59	0,75	0,16	0,16
6 Myrcene	0,00	0,00	0,04	0,01	0,02	0,00	0,00	0,16	0,05	0,07	0,06	0,00	0,03	0,03	0,03
7 S-limonene	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,05	0,05	0,05
8 1-8 cineole	0,14	0,20	0,36	0,23	0,08	0,37	0,40	0,38	0,38	0,01	0,37	0,14	0,26	0,12	0,12
Celkem	2,03	2,02	1,63	1,89	0,62	1,42	1,62	1,87	1,64	0,36	3,80	2,61	3,21	0,64	0,64

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

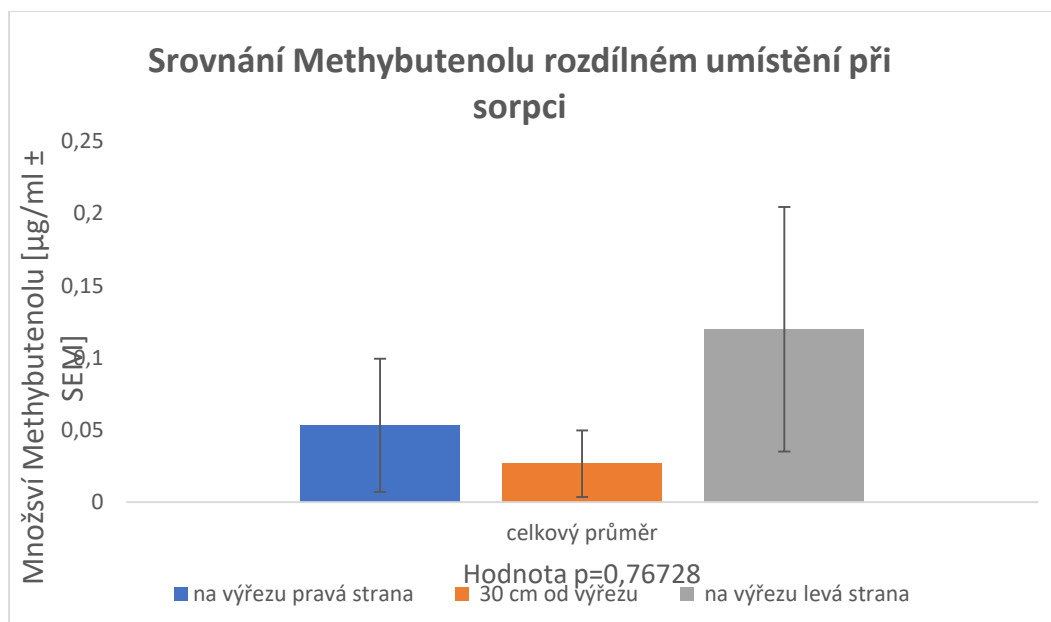
Z těchto naměřených dat byla zhotovena jednorozměrná analýza rozptylu (ANOVA). Tato analýza byla použita jen na dvě pro nás nejdůležitější látky ze spektra zachycených látek, a to na α-pinene a MB. Při této analýze byla jako proměnná zvolena vzdálenost od výřezu, jednalo se o měření přímo na výřezu a 30 cm od něj. K tomuto šetření byly sestaveny sloupcové grafy, pomocí nichž jsou zobrazovány celkové průměry jednotlivých šetření.



V grafu č. 3. je znázorněno srovnání průměrů  $\alpha$ -pinenu při sorpci na SPME vlákno. Dle statistické jednofaktorové analýzy ANOVA ( $p = 0,02694$ ) se jedná o statisticky významné měření, jak vyplývá ze standardní chyby průměru (SEM). V grafu č. 4. je stejné šetření použito i na MB (ANOVA;  $p = 0,76728$ ), zde se však nejedná o signifikované výsledky.



Graf č. 3. Srovnání průměrů  $\alpha$ -pinenu na sorpční kolonku (přímo na výřezu a 30 cm od něj). Osa x popisuje průměr ze všech pokusů. Osa y popisuje nachytné množství  $\alpha$ -pinenu [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá a šedá barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu přímo na výřezu a oranžová barva označuje sorpci  $\alpha$ -pinenu ve vzdálenosti 30 cm od výřezu. Při měření se zjistilo že se jedná o signifikované měření.



Graf č. 4. Srovnání průměrů Methybutenolu na sorpční kolonku (přímo na výřezu a 30 cm od něj). Osa x popisuje průměr ze všech pokusů. Osa y popisuje nachytné množství *Methybutenolu* [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá a šedá barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu přímo na výřezu a oranžová barva označuje sorpci *Methybutenolu* ve vzdálenosti 30 cm od výřezu. Při měření se zjistilo že se nejedná o signifikované měření.

#### 5.7.4. Měření falešného stromu

Experimenty s falešným stromem probíhaly ve dnech 01. 07. a 08. 07. 2021 a to jak v laboratorních podmínkách, tak i venku. Pro měření byly opět použity odparníky typu D. V laboratorních podmínkách jsme použili dva odparníky typu D plus jeden MB a u venkovního šetření bylo použito pět odparníků typu D. U všech měření falešného stromu byla pumpička nastavena na průtok 100 ml/min po dobu 10 minut. Bližší specifikace měření jsou v tabulce č. 22. a postup měření je detailně popsán v kapitole 4.3.4. odběr vzorků z falešného stromu. Data změřená v obou dnech jsou umístěna v příloze č. 6.

Tab. č. 22. Soubor specifik z měření falešného stromu

Datum měření	Způsob	Odparník	Kolonka	Průtok	Čas	Proplach
01.07.2021	falešný strom v laboratoři	35+34+MB	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	1500 µl hexane
		control	Tenax tandem			
08.07.2021	falešný strom venku falešný strom v laboratoři	35+36+39+40+41	Tenax tandem	100 ml/min	10 min	1500 µl hexane

Dne 08. 07. 2021 probíhalo měření jak v laboratorních podmínkách (zde bylo přesně specifikované prostředí, teplota 24 °C +/- 1 °C, předem důkladně vyvětraná místnost, ...), tak i ve venkovních podmínkách. Vzhledem k tomu, že měření probíhalo ve stejný den a byly použity stejné odparníky tak by měl být zaručen přibližně stejný odpar těchto odparníků. U obou těchto měření byla pumpička s kolonkami umístěna nad falešný strom ve stejném odstupu, který v našem případě činil 20 cm (Obr. č. 18.). Tudíž jedinou proměnnou v tomto experimentu bylo to, že na vzorek měřený venku působily jiné klimatické podmínky. Tento den byl bezvětrný a teplota prostředí byla 23,5 °C. I přes tyto téměř shodné podmínky nebyly na kolonkách z venkovního měření zachyceny žádné BVOC, zatím co při vnitřním experimentu se povedlo zachytit  $\alpha$ -pinene a  $\beta$ -pinene. Data z těchto měření jsou zachycena v příloze č. 6.

### 5.7.5. Měření za pomoci SPME vlákna

Měření za pomoci SPME vlákna probíhalo od 1. do 8. listopadu roku 2021. Pokusy pro toto měření byly prováděny na napadeném smrkovém výřezu, který je znázorněn na Obr. č. 25. Napadené výřezy byly toxikovány vitálními koloniemi lýkožrouta smrkového. Tyto experimenty byly založeny na optimalizaci vzdálenosti od výřezu a době sorpce. Podobně jako u předchozí metody head – space byl výzkum zaměřen na metodu, která by mohla být prospěšná pro časnou detekci napadených stromů, čímž by se mohlo zabránit nekontrolovatelnému šíření lýkožroutů. Při GC analýze byly klasifikovány pouze dvě látky a to  $\alpha$ -pinen a MB. Všechna provedená měření jsou uvedena v následujících tabulkách v nanogramech na mililitr vzduchu.



Obr. č. 25. měření přímo na výřezu pomocí SPME vlákna

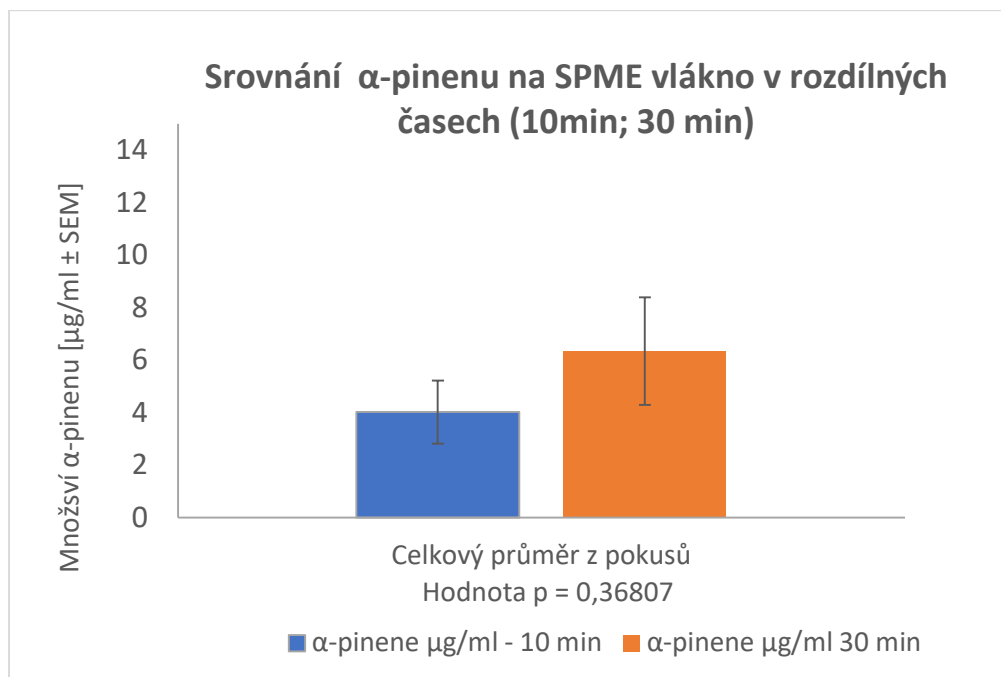
U první sady pokusů z 01. 11. 2021 (čtyři měření) byla měření prováděna přímo na napadeném výřezu viz Obr. č. 25. Údaje naměřené při těchto experimentech jsou umístěny v Tab. č. 25. Sorpce exhalátů probíhala na dvě vlákna a výsledky jsou uváděna v  $\mu\text{g}/\text{ml}$  vzduchu.

Tab. č. 23. Sběr SPME vláknem přímo z napadeného výřezu

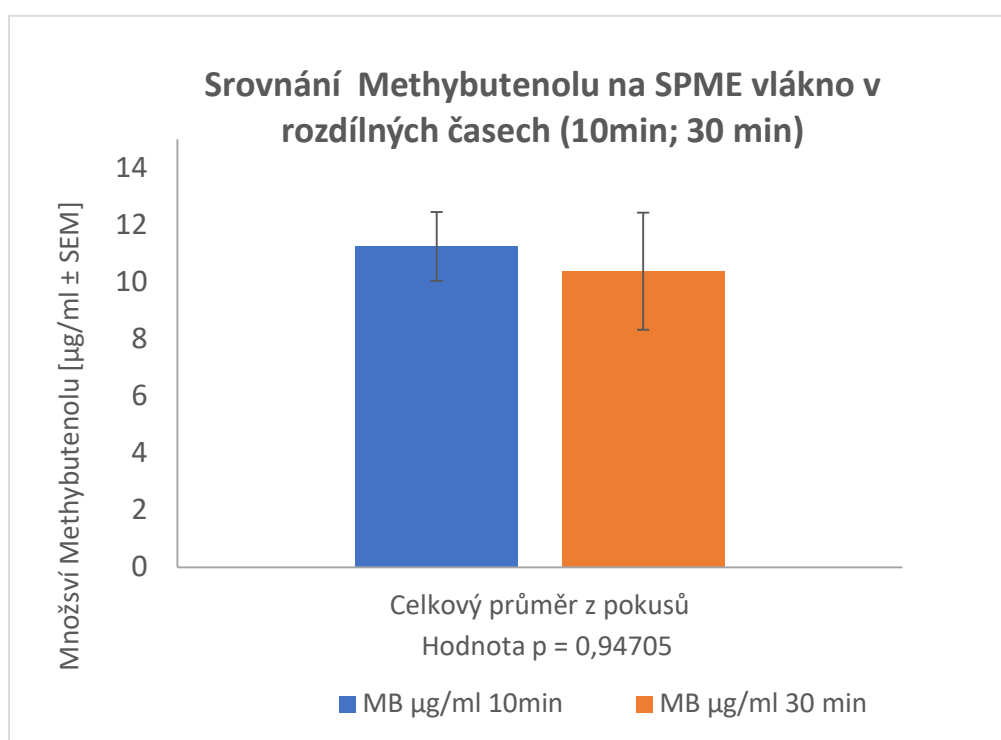
Přímo na výřezu (vlákno 2)	10 min					
	pokus 1	pokus 2	pokus 3	pokus 4	Průměr	Směrodatná odchylka
$\alpha$ -pinene $\mu\text{g}^*$	0,0028	0,00166	0,00721	0,00442	0,00402	0,00179
MB $\mu\text{g}^*$	0,03995	0,00133	0,00101	0,00272	0,01125	0,01434
Přímo na výřezu (vlákno 3)	30 min					
	pokus 1	pokus 2	pokus 3	pokus 4	Průměr	Směrodatná odchylka
$\alpha$ -pinene $\mu\text{g}^*$	0,00534	0,00211	0,01195	0,00595	0,00634	0,0028
MB $\mu\text{g}^*$	0,03493	0,00104	0,00272	0,00283	0,01038	0,01227

\*množství látky sorbované na vlákno

Z dat získaných z tohoto pokusu byla vyhotovena jednorozměrná analýza rozptylu (ANOVA). Při této analýze byla jako proměnná zvolena délka sorpce (10 min; 30 min). K této analýze byly sestaveny sloupcové grafy reprezentující celkové průměry ze všech opakování/pokusů v časech 10 min a 30 min. V grafu č. 5. je znázorněn  $\alpha$ -pinen při různých délkách sorpce (ANOVA;  $p = 0,368007$ ), při šetření nebyla odhalena signifikace dat. V dalším grafu č. 6. je stejné šetření jen pro MB (ANOVA;  $p = 0,94705$ ) a opět se nejedná o signifikované měření.



Graf č. 5. Srovnání  $\alpha$ -pinenu na sorpční kolonku v časech 10 a 30 min. Osa x znázorňuje průměry v rozdílných časech. Osa y popisuje nasorbované množství  $\alpha$ -pinenu [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu v době 10 minut. Oranžová barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu době 30 minut. Nejedná se o signifikovaná měření.



Graf č. 6. Srovnání Methybutenolu na sorpční kolonku v časech 10 a 30 min. Osa x znázorňuje průměry v rozdílných časech. Osa y popisuje nasorbované množství Methybutenolu [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá barva reprezentuje sorpci Methybutenolu v době 10 minut. Oranžová barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu době 30 minut. Nejedná se o signifikovaná měření.

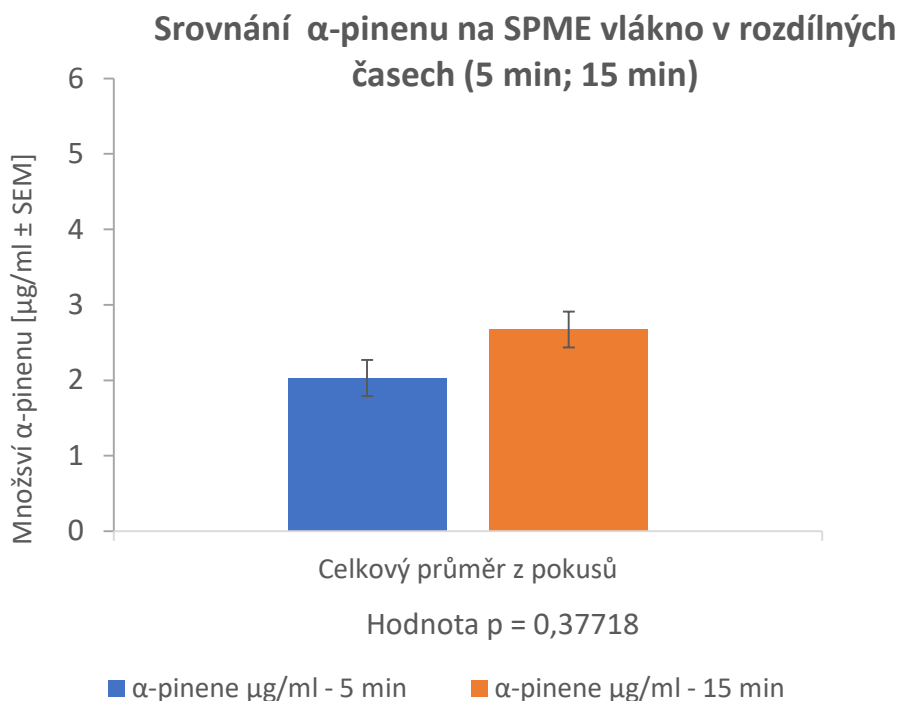
Druhá sada pokusů probíhala ve vzdálenosti 30 cm od napadeného výřezu. Pokus se prováděl se čtyřmi opakováními. Odběr opět probíhal na dvě SPME vlákna. Údaje naměřené při těchto experimentech jsou umístěny v Tab. č. 24. Data jsou zapsaná v  $\mu\text{g/ml}$  vzduchu.

Tab. č. 24. Sběr s SPME vláknem 30 cm od napadeného výřezu

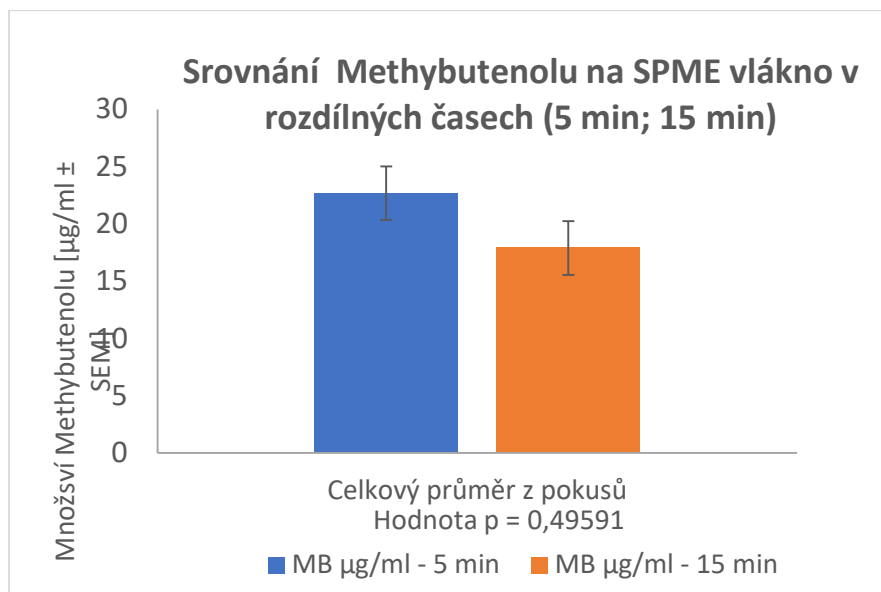
30 cm od výřezu (vlákno 2)	5 min					
	pokus 1	pokus 2	pokus 3	pokus 4	Průměr	Směrodatná odchylka
$\alpha$ -pinene $\mu\text{g}^*$	0,00214	0,0029	0,002	0,00123	0,00207	0,00045
MB $\mu\text{g}^*$	0,0375	0,0262	0,0171	0,010	0,0227	0,00915
30 cm od výřezu (vlákno 3)	15 min					
	pokus 1	pokus 2	pokus 3	pokus 4	Průměr	Směrodatná odchylka
$\alpha$ -pinene $\mu\text{g}^*$	0,00429	0,00241	0,00152	0,00248	0,00268	0,00080
MB $\mu\text{g}^*$	0,0251	0,0152	0,0197	0,01161	0,0179	0,00449

\*množství látky sorbované na vlákno

Statistická analýza těchto dat probíhala za pomoci jednorozměrné analýzy rozptylu (ANOVA). Při této analýze se zkoumal vliv vzdálenosti na množství zachycených BVOC. Šetření probíhalo pro  $\alpha$ -pinene (graf č. 7.; ANOVA;  $p = 0,37718$ ) a pro MB (graf č. 8.; ANOVA;  $p = 0,49591$ ), u obou těchto pokusů se nejednalo o signifikovaná měření. Hodnoty získané z experimentu za pomoci programu statistika je znázorněno v příloze č. 8.



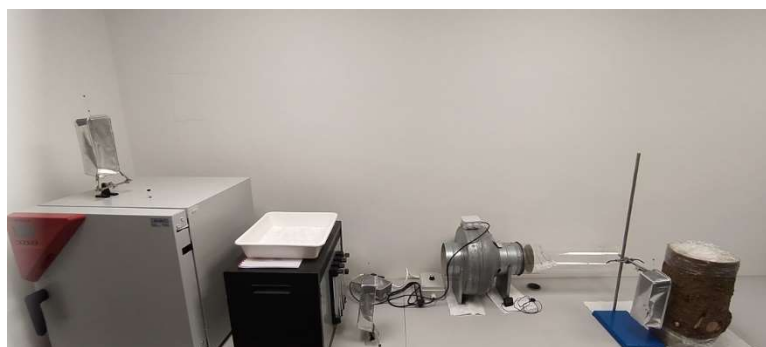
Graf č. 7. Srovnání  $\alpha$ -pinenu na sorpční kolonku. Osa x znázorňuje průměry v rozdílných časech. Osa y popisuje nasorbované množství  $\alpha$ -pinenu [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu v době 5 minut. Oranžová barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu době 15 minut. Nejedná se o signifikovaná měření.



Graf č. 8. Srovnání Methybutenolu na sorpční kolonku. Osa x znázorňuje průměry v rozdílných časech. Osa y popisuje nasorbované množství Methybutenolu [µg/ml]. Modrá barva reprezentuje sorpci Methybutenolu v době 5 minut. Oranžová barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu době 15 minut. Nejedná se o signifikovaná měření.

Při další sadě pokusů byla najednou použita tři vlákna, která byla umístěna ve třech různých vzdálenostech viz Obr. č. 26. Tento pokus byl proveden ve čtyřech opakováních. Údaje naměřené při těchto pokusech jsou umístěny v Tab. č. 25.

Z grafů vycházejících z Tab. č. 25. (grafy v příloze č. 9.) je patrné, že hladina  $\alpha$ -pinenu i MB ve dvou metrech je vysoká. Tento fakt je nejspíš zapříčiněn tím, že jak je vidět na obrázku č. 26. měření ve dvou metrech probíhalo poblíž dveří a na sušičce. Proto je velmi pravděpodobné že došlo ke kontaminaci a tím pádem ke zkreslení vzorků odebraných poblíž dveří a sušárny. Proto se třetí SPME vlákno použité při tomto měření (vlákno ve vzdálenosti 2 m) nezahrnulo do výsledků statistické analýzy. Z tohoto důvodu vzorky naměřené ve vzdálenosti dvou metrů od výřezu byly odebrány z plnohodnotných analýz a pro správné výsledky byly použity pouze data naměřená ve vzdálenosti 0,1 m a 1 m od výřezu. Tyto data jsou zachycena v grafu č. 9 a 10.



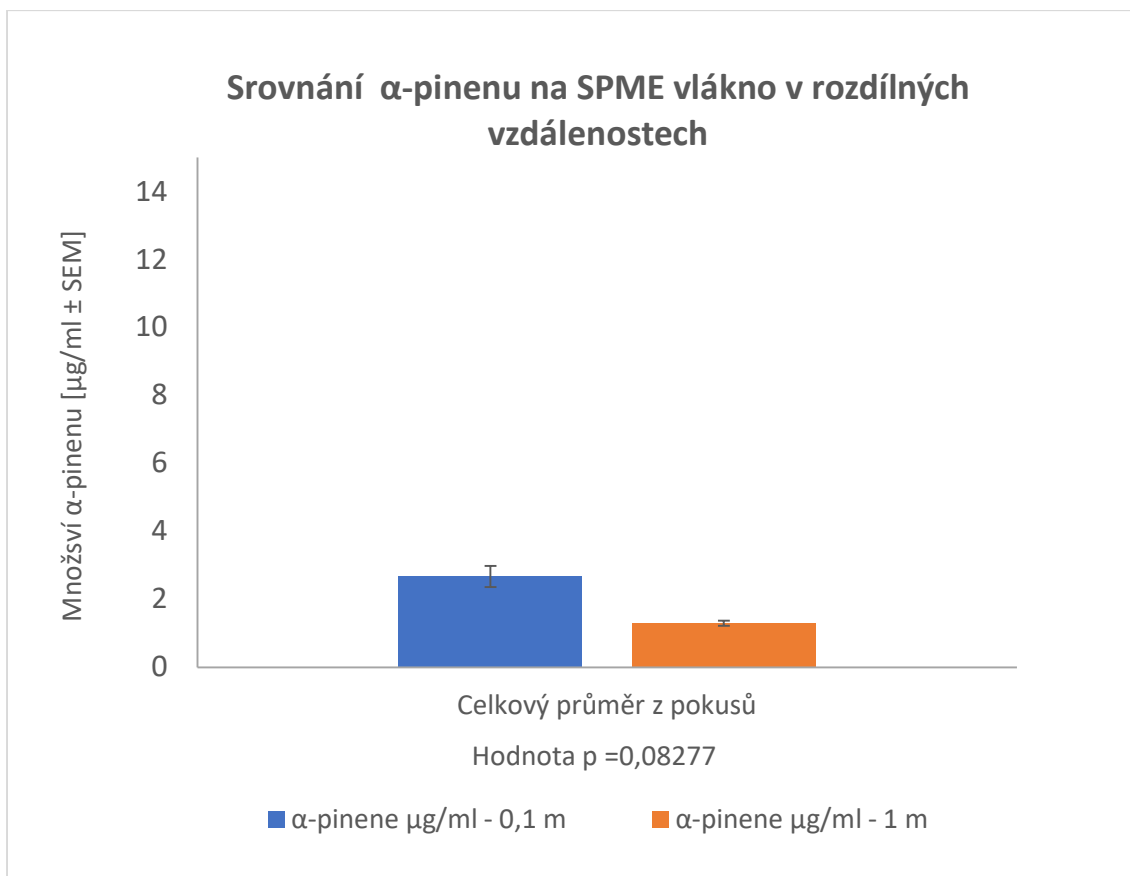
Obr. č. 26. Vzorky odebírané SPME vlákem ve stejnou dobu

Tab. č. 25. Sběr s SPME vlákem v různých vzdálenostech od napadeného výřezu

Sorpce 15 min	Vlákno 1	Vlákno 2	Vlákno 3
	10 cm od výřezu	1 m od výřezu	2 m od výřezu
<b>Pokus 1</b>			
α-pinene µg*	2,02	1,38	8,61
MB µg*	45,7	46	65,61
<b>Pokus 2</b>			
α-pinene µg*	2,44	0,85	1,03
MB µg*	3,01	2,35	3,05
<b>Pokus 3</b>			
α-pinene µg*	1,68	1,47	2,57
MB µg*	14,8	13,7	14,8
<b>Pokus 4</b>			
α-pinene µg*	4,54	1,49	1,46
MB µg*	3,54	3,86	4,46
<b>Průměr</b>			
α-pinene µg*	2,67	1,3	3,42
MB µg*	16,8	16,5	21,9
<b>Směrodatná odchylka</b>			
α-pinene	0,99	0,43	2,11
MB µg*	11,58	11,81	17,45

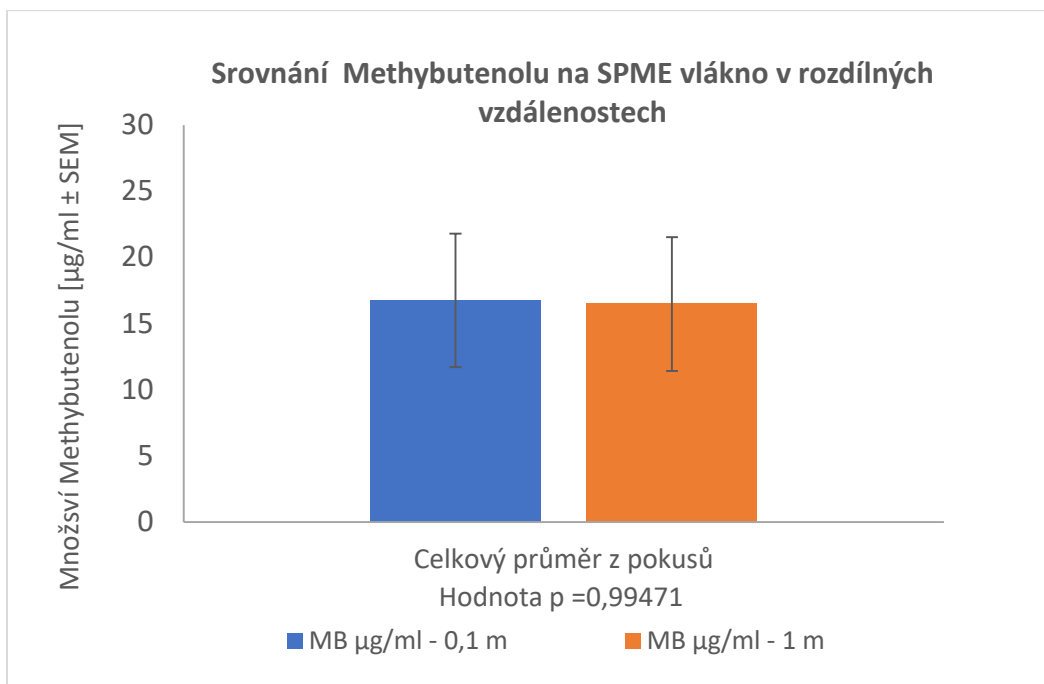
\*množství látky sorbované na vlákno

Statistické šetření těchto dat probíhalo za pomoci jednorozměrné analýzy rozptylu (ANOVA). Na základě této analýzy byly sestaveny dva sloupcové grafy, jeden pro α-pinen (ANOVA;  $p = 0,08277$ ) a druhý pro MB (ANOVA;  $p = 0,99471$ ). V obou případech data neukazují na to, že by se jednalo o signifikaci (hodnota  $p$  se uvádí pouze pro měření ve vzdálenosti 0,1 a 1 m). Šetření za pomoci programu statistika je znázorněno v příloze č. 8.



Graf č. 9. Srovnání  $\alpha$ -pinenu při odběrech na SPME vlákno. Osa x znázorňuje průměry v rozdílných vzdálenostech. Osa y popisuje nasorbované množství  $\alpha$ -pinenu [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu ve vzdálenosti 0,1 m od výřezu, oranžová barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu ve vzdálenosti 1 m od výřezu. Nejedná se o signifikovaná měření.





Graf č. 10. Srovnání MB při odběrech na SPME vlákno. Osa x popisuje průměr ze všech pokusů. Osa y popisuje nasorbované množství Methybutenolu [µg/ml]. Modrá barva reprezentuje sorpci Methybutenolu ve vzdálenosti 0,1 m od výřezu, oranžová barva reprezentuje sorpci Methybutenolu ve vzdálenosti 1 m od výřezu. Nejedná se o signifikovaná měření. Šetření za pomoci programu statistika je znázorněno v příloze č. 8.

## 6. Závěr

Jedním z hlavních výstupů této diplomové práce je shrnutí poznatků o emisi těkavých látek, které jsou produkovány napadenými smrky a provedení jejich následné analýzy. Veškeré poznatky jsou shrnuty v rozboru problematiky. Dalším neméně důležitým výstupem je optimalizace měření vzorků za pomoci head-space analýzy. A posledním vymezeným cílem této práce bylo pilotní vzorkování BVOC na povrchu a v okolí napadeného stromu.

Pro optimalizaci odparníků byly na jejich výrobu použity komerčně vyrobené BVOC látky (v našem případě směs  $\alpha$ -pinenu, campheninu,  $\beta$ -pinenu, myrceninu, 3-areninu, limonenu a eukaliptolu (1-8 cineole)). Z těchto pokusů vyšel jako nejlepší odparník typu D, což je odparník vytvořený jako pytlík z folie silné 0,18 mm v němž je umístěna houbička o rozměrech (21x94x2 mm), která je napuštěna již zmiňovaným roztokem. Po optimalizaci odparníků následovala optimalizace kolonek. Nejlépe z měření vyšly kolonky komerční výroby. Jako nejúčelnější typ odběru vzorků byl stanoven tandemový odběr kolonek (dvě kolonky za sebou propojené teflonovou trubičkou). Nejlepším sorbentem v kolonkách byl stanoven Tenax TA o zrnitosti 80 – 100. Pro optimalizaci průtoku vzduchu při měření bylo použito osobní odběrové čerpadlo Pocket Pump Touch. Dle pokusů vyšlo najevo, že neoptimálnější průtok vzduchu pumpičkou pro vzorkování je 100 ml/min po dobu 10 min. Jako rozpouštědlo pro výplach kolonek byl původně zvažován pentan a hexan. Z těchto dvou vyšel lépe hexan, který byl použit pro stanovení optimálního množství výplachu kolonek. Neoptimálnější množství rozpouštědla pro výplach kolonek bylo stanoveno množství 1500  $\mu$ g. Jedná se o množství, při kterém došlo k důkladnému vymytí kolonky.

Po optimalizaci všech potřebných kroků pro měření probíhaly experimenty na falešném stromu, ale bylo provedeno měření i na skutečně napadených výřezech.

Tato diplomová práce je součástí rozsáhlejšího výzkumu, který stále probíhá. Veškeré cíle ze zadání mé diplomové práce, které byly stanoveny v začátku práce, byly zcela splněny.

## 7. Seznam použité literatury

ADAMS HD, GERMINO MJ, BRESHEARS DD, BARRON-GAFFORD GA, GUARDIOLA-CLARAMONTE M, ZOU CB, HUXMAN TE (2013) Nonstructural leaf carbohydrate dynamics of *Pinus edulis* during drought-induced tree mortality reveal role for carbon metabolism in mortality mechanism. *New Phytol* 197:1142–1151.

Vyhláška č. 76/2018 Sb. vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 101/1996 Sb., kterou se stanoví podrobnosti o opatřeních k ochraně lesa a vzor služebního odznaku a vzor průkazu lesní strážže, ve znění vyhlášky č. 236/2000 Sb.

Amin H. S., Russo R. S., Sive B., Hoebeke E. R., Dodson C., McCubbin I. B., Hallar. G., Monoterpene emissions from bark beetle infested Engelmann spruce trees, *Atmospheric Environment*, Volume 72, 2013, Pages 130-133, ISSN 1352-2310

AMMAN, G., (1991). Hmyz v lese. J. Steinbrener, Vimperk: 344 s

BERINI JL, BROCKMAN SA, HEGEMAN AD, REICH PB, MUTHUKRISHNAN R, MONTGOMERY RA, FORESTER JD (2018) Combinations of abiotic factors differentially alter production of plant secondary metabolites in five woody plant species in the boreal-temperate transition zone. *Front Plant Sci* 9:1257. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01257>

BIRGERSSON, G. AND BERGSTRÖM G., 1989: "Volatiles released from individual spruce bark beetle entrance holes - quantitative variations during the 1st week of attack." *Journal of Chemical Ecology* 15(10): 2465-2483.

BIRGERSSON, G., BERGSTRÖM, G. Volatiles released from individual spruce bark beetle entrance holes Quantitative variations during the first week of attack. *J Chem Ecol* 15, 2465–2483 (1989).

BRUCE TJA, PICKETT JA (2011) Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – Finding the right mix. *Phytochemistry* 72:1605–1611. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.011>

Brūna, L.; Lione, G.; Kenigsvalde, K.; Burņeviča, N.; Zaļuma, A.; Kļaviņa, D.; Gaitnieks, T.; Gonthier, P. Inferences on the Susceptibility of Wood of Different Tree Species to *Heterobasidion annosum* Sensu Lato Primary Infections and on the Range of Pathogen Spores Dispersal. *Forests* 2021, 12, 854

CARTER W. P. L., 1994: Development of ozone reactivity scales for volatile organic compounds *Journal of the Air Waste Management Association*, 44 (1994), pp. 881-899

CAUDULLO, G., W. TINNER, D. DE RIGO, 2016: *Picea abies* in Europe: distribution, habitat, usage and threats [online]. 2016 [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/318462839\\_Picea\\_abies\\_in\\_Europe\\_distribution\\_habitat\\_usage\\_and\\_threats](https://www.researchgate.net/publication/318462839_Picea_abies_in_Europe_distribution_habitat_usage_and_threats)

- DOLEŽAL, P., SEHNAL, F., 2007: Effects of photoperiod and temperature on the development and diapause of the bark beetle *Ips typographus*. *Journal of Applied Entomology*, 131(3): 165–173.
- DUDAREVA, N., PICHERSKY, E. AND GERSHENZON, J., 2004: Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiol.*, 135: 1893–1902.
- ELLER, A.S.D., HARLEY, P., MONSON, R.K., 2013: Potential contribution of exposed resin to ecosystem emissions of monoterpenes, *Atmos. Environ.*, 77 (2013), pp. 440-444
- ELLER, A.S.D., HARLEY, P., MONSON, R.K., 2013: Potential contribution of exposed resin to ecosystem emissions of monoterpenes *Atmos. Environ.*, 77 (2013), pp. 440-444
- ERBILGIN N, CALE JA, HUSSAIN A, ISHANGμLYYEVA G, KLUTSCH JG, NAJAR A, ZHAO S (2017) Weathering the storm: how lodgepole pine trees survive mountain pine beetle outbreaks. *Oecologia* 184:469–478. <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3865-9>
- FEHSENFELD, F., ET AL. 1992: Emissions of volatile organic compounds from vegetation and the implications for atmospheric chemistry, *Global Biogeochem. Cycles*, 6 (4), 389– 430, doi:10.1029/92GB02125.
- FERRENBURG S, LANGENHAN JM, LOSKOT SA, ROZAL LM, MITTON JB (2017) Resin monoterpene defenses decline within three widespread species of pine (*Pinus*) along a 1530-m elevational gradient. *Ecosphere* 8:e01975. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1975>
- FOSSDAL CG, NAGY NE, JOHNSEN O, DALEN LS (2007) Local and systemic stress responses in Norway spruce: similarities in gene expression between a compatible pathogen interaction and drought stress. *Physiol Mol Plant P* 70:161–173. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.09.002>
- FRANCESCHI, VINCENT & KROKENE, PAAL & CHRISTIANSEN, ERIK & KREKLING, TRYGVGE, 2005: Anatomical and Chemical Defenses of Conifer Bark against Bark Beetles and Other Pests. *The New phytologist*. 167. 353-75. [10.1111/j.1469-8137.2005.01436.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01436.x).
- FÜHRER E Entomologische Aspekte der Umwandlung montaner Fichtenforste in Mitteleuropa, *Entomol. Gener.*, 21 (1996), pp. 1-15
- FÜHRER, E., 1996: Entomologische Aspekte der Umwandlung montaner Fichtenforste in Mitteleuropa *Entomol. Gener.*, 21 (1996), pp. 1-15
- GAYLORD ML, KOLB TE, POCKMAN WT ET AL (2013) Drought predisposes pinon-juniper woodlands to insect attacks and mortality. *New Phytol* 198:567–578. <https://doi.org/10.1111/nph.12174>
- GERON, C., RASMUSSEN, R., ARNTS, R.R., GUENTHER, A., 2000: A review and synthesis of monoterpene speciation from forests in the United States, *Atmos. Environ.*, 34 (11) (2000), pp. 1761-1781

GHIMIRE R. P., KIVIMÄENPÄÄ M., BLOMQUIST M., HOLOPAINEN T., PÄIVI LYYTIKÄINEN-SAARENMAA, JARMO K. HOLOPAINEN, Effect of bark beetle (*Ips typographus* L.) attack on bark VOC emissions of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) trees, Atmospheric Environment, Volume 126, 2016, Pages 145-152, ISSN 1352-2310,

GHIMIRE, R.P., KIVIMÄENPÄÄ, M., BLOMQUIST, M., HOLOPAINEN, T., LYYTIKÄINEN-SAARENMAA, P., HOLOPAINEN, J.K., 2016: Effect of bark beetle (*Ips typographus* L.) attack on bark VOC emissions of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) trees. Atmos Environ 126:145–152.

Giunta A. D., Runyon J. B., Jenkins M. J., Teich M., Volatile and Within-Needle Terpene Changes to Douglas-fir Trees Associated With Douglas-fir Beetle (Coleoptera: Curculionidae) Attack, Environmental Entomology, Volume 45, Issue 4, August 2016, Pages 920–929

GUENTHER A. B., JIANG, X., HEALD, C. L., SAKULYANONTVITTAYA, T., DUHL, T., EMMONS, L. K., AND WANG, X., 2012: The Model of Emissions of Gases and Aerosols from Nature version 2.1 (MEGAN2.1): an extended and updated framework for modeling biogenic emissions, Geosci. Model Dev., 5, 1471–1492, <https://doi.org/10.5194/gmd-5-1471-2012>.

GUENTHER, A., HEWITT, C.N., ERICKSON, D., FALL, R., GERON, C., GRAEDEL, T., HARLEY, P., KLINGER, L., LERDAU M., 1995: A global model of natural volatile organic compound emissions, J. Geophys. Res. [Atmos.], 100 (D5) (1995), pp. 8873-8892

GUENTHER, A.B., HEWITT, C.N., ERICKSON, D., FALL, R., GERON, C., GRAEDEL, T., HARLEY, P., KLINGER, L., LERDAU, M., MCKAY, W.A., PIERCE, T., SCHOLLES, B., STEINBRECHER, R., TALLAMRAJU, R., TAYLOR, J., ZIMMERMAN, P., 1995: A global model of natural volatile organic compound emissions Journal of Geophysical Research, 100 (1995), pp. 8873-8892

HARBORNE, J.B. 1991: Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids J.B Harborne, F.A Tomas-Barberan (Eds.), Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids, Clarendon Press, Oxford (1991), pp. 399-426

HEIJARI, J., BLANDE, J.D., HOLOPAINEN, J.K., 2011: Feeding of large pine weevil on Scots pine stem triggers localised bark and systemic shoot emission of volatile organic compounds, Environ. Exp. Bot., 71 (3) (2011), pp. 390-398

HELIN A., HAKOLA H., HELLÉN H. Optimisation of a thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry method for the analysis of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes (2019).

HERCHEL, Radovan. Laboratorní technika. Olomouc: Univerzita Palackého, 2011, ISBN 978-80-244-2857-4.

HIETZ P, BAIER P (2005) Tree temperatures, volatile organic emissions, and primary attraction of bark beetles. *Phyton Ann Rei Bot A* 45(3):341

Hlásny, T., König, L., Krokene, P. et al. Ohniska kůrovce v Evropě: stav znalostí a cesty vpřed pro management. *Curr Forestry Rep* 7, 138–165 (2021).

HOLOPAINEN, J.K., GERSHENZON, J., 2010: Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*, 15, 176–184

HORÁK, T., ET AL., Head-space analysis in brewing analytics. *Kvasny Prumysl (Czech Republic)*, 2012.”

HORNTVEDT, R., CHRISTIANSEN, E., SOLHEIM, H., WANG, S., 1983: Artificial inoculation with *Ips typographus*-associated blue-stain fungi can kill healthy Norway spruce trees. *Medd. Nor. Inst. Skogforsk.*, 38 (1983), pp. 1-20

HÜSNÜ, K., C. BAŞER, AND F. DEMIRCI, *Chemistry of Essential Oils, in Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, R.G. Berger, Editor 2007, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 43-86.

HUSSAIN A, CLASSENS G, GUEVARA-ROZO S, CALE JA, RAJABZADEH R, PETERS BR, ERBILGIN N (2020) Spatial variation in soil available water holding capacity alters carbon mobilization and allocation to chemical defenses along jack pine stems. *Environ Exp Bot*. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103902>

CHINELLATO, F., FACCOLI, M., MARINI, L., BATTI, A., 2014: Distribution of Norway spruce bark and wood boring beetles along Alpine elevational gradients *Agr. For. Entomol.*, 16 (2) (2014), pp. 111-118

CHRISTIANSEN, E., WARING, R.H, BERRYMAN, A.A, 1987: Resistance of conifers to bark beetle attack: searching for general relationships *For. Ecol. Mgmt.*, 22 (1987), pp. 89-106

J.T. KNUDSEN, J. GERSHENZON The chemistry diversity of floral scent N. Dudareva, E. Pichersky (Eds.), *Biology of floral scent*, CRC Press, Boca Raton, Florida (2006), pp. 27-52

JANSON R., SERVES C., Acetone and monoterpene emissions from the boreal forest in northern Europe, *Atmospheric Environment*, Volume 35, Issue 27, 2001, Pages 4629-4637, ISSN 1352-2310,

JIROŠOVÁ, A., B. KALINOVÁ, R. MODLINGER, R. JAKUŠ, C. R. UNELIUS, Miroslav BLAŽENEC a Fredrik SCHLYTER, 2022. Anti-attractant activity of ( )- trans -4-thujanol for Eurasian spruce bark beetle *Ips typographus*: Novel potency for females. *Pest Management Science*. 1-23. ISSN 1526-498X. Dostupné z: [doi:10.1002/ps.6819](https://doi.org/10.1002/ps.6819)

- JONSSON, A.-M., APPELBERG, G., HARDING, S., BARRING, L., 2009: Spatio-temporal impact of climate change on the activity and voltinism of the spruce bark beetle. *Ips typographus*, *Glob. Change Biol.* 15 (2), 486 - 499.
- KANDASAMY, D., GERSHENZON, J., ANDERSSON, M. N., HAMMERBACHER, A. Volatile organic compounds influence the interaction of the Eurasian spruce bark beetle (*Ips typographus*) with its fungal symbionts. *The ISME Journal*. 2019, vol. 13, no. 7, s. 1788–1800. ISSN: 1751-7370.
- KANDASAMY, D., GERSHENZON, J., HAMMERBACHER, A. Volatile Organic Compounds Emitted by Fungal Associates of Conifer Bark Beetles and their Potential in Bark Beetle Control. *Journal of Chemical Ecology*. 2016, vol. 42, no. 9, s. 952–969. ISSN 0098-0331.
- KESSELMEIER, J., WILSKE, B., MUTH, S., BODE, K., WOLF, A.: 1999: Exchange of oxygenated volatile organic compounds between boreal lichens and the atmosphere T. Laurila, V. Lindfors (Eds.), European Commission: Biogenic VOC Emissions and Photochemistry in the Boreal Regions of Europe – Biphorep. Scientific Final Report, March, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg (1999), p. 158
- KOMENDA, M. KOPPMANN, R.. (2002). Monoterpene emissions from Scots pine (*Pinus sylvestris*): Feld studies of emission rate variabilities. *Journal of Geophysical Research*. 107. 10.1029/2001JD000691.
- KŘŮMAL K., MIKUŠKA P., VEČEŘOVÁ K., URBAN O., PALLOZZI E., VEČEŘA Z, Wet effluent diffusion denuder: The tool for determination of monoterpenes in forest, *Talanta*, Volume 153, 2016, Pages 260-267, ISSN 0039-9140
- KUMAR, R., TRAINING, Y.C.T., Manual on extraction technology of natural dye and aroma therapy and cultivation value addition of medicinal plants, F.R. Institute, Editor 2011: Dehradun. p. 200.
- LAOTHAWORNKITKUL, J., TAYLOR J.E., PAUL N.D., HEWITT, C.N., 2009: Biogenic volatile organic compounds in the earth system *New Phytol.*, 183 (1) pp. 27-51
- LEMFACK, M. C., GOHLKE, B. O., TOGUEM, S. M. T., PREISSNER, S., PIECHULLA, B., PREISSNER, R., 2017: mVOC 2.0: a database of microbial volatiles, *Nucleic Acids Research*, Volume 46, Issue D1, 4 January 2018, Pages D1261–D1265, <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1016>
- LINDSTRÖM M, NORIN T, BIRGERSSON G, SCHLYTER F (1989) Variation of enantiomeric composition of alpha-pinene in Norway spruce, *Picea abies*, and its influence on production of verbenol isomers by *Ips typographus* in the field. *J Chem Ecol* 15:541–548. <https://doi.org/10.1007/BF01014699>
- LORETO F., SCHNITZLER JP., 2010: Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends Plant Sci.* 2010 Mar;15(3):154-66. doi: 10.1016/j.tplants.2009.12.006. Epub 2010 Feb 4. PMID: 20133178.

- LORETO, F., CICCIOLO, P., CECINATO, A., BRANCALEONI, E., FRATTONI, M., TRICOLI D., 1996: Influence of environmental factors and air composition on emission of  $\alpha$ -pinene from *Quercus ilex* leaves *Plant Physiology*, 110 (1996), pp. 267-275
- LORETO, F., SCHNITZLER, J.-P., 2010: Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends Plant Sci.*, 15 (3) pp. 154-166
- LUBOJACKÝ J., LORENC F., LIŠKA J., KNÍŽEK M., 2019: Hlavní problémy v ochraně lesa v Česku v roce 2018 a prognóza na rok 2019. In: KNÍŽEK, M., (ed.): Škodliví činitelé v lesích Česka 2018/2019 – Historie a současnost kůrovcových kalamit ve střední Evropě. Sborník referátů z celostátního semináře s mezinárodní účastí. Průhonice: Zpravodaj ochrany lesa, 14–19.
- MADĚRA, P., ÚRADNÍČEK, L., *Dřeviny České republiky*. Písek: Matice lesnická, c2001. ISBN 80-86271-09-9.
- MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. Zpráva o stavu lesů a lesního hospodářství České republiky v roce 2019 (Zelená zpráva). Praha: [s.n.]: 2018. 117 s. ISBN 978- 80-7434-477-0.
- MODLINGER, R., LIŠKA, J., KNÍŽEK, M., ADAM, D., JANÍK D., HORT, L. 2015: Ochrana lesa před lýkožroutem smrkovým v ochranném pásmu lesních rezervací ponechaných samovolnému vývoji: certifikovaná metodika. Strnady: Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti. Lesnický průvodce. ISBN 978-80-7417-104-8.
- MONDELLO, L., TRANCHIDA, P.Q., DUGO, P. AND DUGO, G., 2008: Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry: A review. *Mass Spectrom. Rev.*, 27: 101-124. <https://doi.org/10.1002/mas.20158>
- MRKVA, R., 1995: Nové poznatky o bionomii, ekologii a hubení lýkožrouta severského. *Lesnická práce* 74: 5–7.
- MUSIL, I., HAMERNÍK, J., 2007: Jehličnaté dřeviny. Praha. Academia.: 141–153. ISBN 978-80-200- 1567-9.
- MUSIL, I., HAMERNÍK, J., *Jehličnaté dřeviny: přehled nahosemenných i výtrusných dřevin: lesnická dendrologie 1*. Praha: Academia, 2007. ISBN 978-80-200- 1567-9.
- NETHERER S, MATTHEWS B, KATZENSTEINER K ET AL (2015) Do water-limiting conditions predispose Norway spruce to bark beetle attack? *New Phytol* 205:1128–1141. <https://doi.org/10.1111/nph.13166>
- NETHERER, S., KANDASAMY, D., JIROSOVÁ, A. ET AL. Interactions among Norway spruce, the bark beetle *Ips typographus* and its fungal symbionts in times of drought. *J Pest Sci* 94, 591–614 (2021). <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01341-y>
- PAINE, T.D, RAFFA, K.F, HARRINGTON, T.C., 1997: Interactions among scolytid bark beetles, their associated fungi, and live host conifers *Annu. Rev. Entomol.*, 42 (1997), pp. 179-206



- PEÑUELAS, J., LLUSIA J.,: 2003. BVOCs: plant defence against climate warming? *Trends Plant Sci.*, 8 (3) (2003), pp. 105-109
- PROCHÁZKOVÁ, D.: *Chem. Listy* 96, 827–852 (2002)
- RAGUSO, R.A., PELLMYR, O., 1998: Dynamic headspace analysis of floral volatiles: a comparison of methods. *Oikos*, 81, 238– 254.
- RAJA, P. M., BARRON, A. R., 2021: *Dynamic Headspace Gas Chromatography Analysis*. Retrieved September 6, 2021, from <https://chem.libretexts.org/@go/page/55896>
- RIDGWAY K., LALLJIE S.P.D., SMITH R.M., *J. Chromatogr. A*; 1153, 36-53 (2007).
- SEIDL R, MÜLLER J, HOTHORN T, BÄSSLER C, HEURICH M, KAUTZ M (2016) Small beetle, large-scale drivers: how regional and landscape factors affect outbreaks of the European spruce bark beetle. *J Appl Ecol* 53:530–540. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12540>
- SEIDL, R., SCHELHAAS, M. J., RAMMER, W., VERKERK, P. J., 2014: Increasing forest disturbances in Europe and their impact on carbon storage. *Nature climate change*, 4(9), 806-810.
- SHARKEY, T.D., HOLLAND, A.E., MOONEY, H.A., 1991: *Trace Gas Emission of Plants*, Academic Press, San Diego, CA (1991), pp. 121-134
- SCHAUB, A., BLANDE, J.D., GRAUS, M., OKSANEN, E., HOLOPAINEN, J.K. & HANSEL, A., 2010: Real-time monitoring of herbivore induced volatile emissions in the field. *Physiologia Plantarum*, 138, 123– 133.
- SCHELHAAS, M. J., NABUURS, G. J., SCHUCK, A., 2003: Natural disturbances in the European forests in the 19th and 20th centuries. *Global Change Biology*, 9(11), 1620- 1633.
- SCHLYTER F, BIRGERSSON G, BYERS JA, LÖFQVIST J, BERGSTRÖM G (1987) Field response of spruce bark beetle, *Ips typographus*, to aggregation pheromone candidates. *J Chem Ecol* 13:701–716. <https://doi.org/10.1007/BF01020153>
- SCHÖNWITZ R, KLOOS M, MERK L, ZIEGLER H (1990) Patterns of monoterpenes stored in the needles of *Picea abies* (L) Karst from several locations in mountainous regions of southern Germany. *Trees* 4:27–33. <https://doi.org/10.1007/BF00226237>
- SON, YS., KIM, KJ., JUNG, IH. et al. Seasonal variations and emission fluxes of monoterpene emitted from coniferous trees in East Asia: focused on *Pinus rigida* and *Pinus koraiensis*. *J Atmos Chem* 72, 27–41 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10874-015-9303-7>
- STAUDT, M., BERTIN, N., FRENZEL, B. et al. Seasonal variation in amount and composition of monoterpenes emitted by young *Pinus pinea* trees – implications for emission modeling *journal of atmospheric chemistry* 35, 77–99 (2000). <https://doi.org/10.1023/a:1006233010748>

STEINBRECHER, R., ZIEGLER, H., EICHSTÄDTER, G., FEHSENFELD, U., GABRIEL, R., KOLB, CH., RABONG, R., SCHÖNWITZ, R., SCHURMANN, W., 1997: Monoterpene and isoprene emission in Norway spruce forests S. Slanina (Ed.), Biosphere-Atmosphere Exchange of Pollutants and Trace Substances, Springer, Verlag-Berlin Heidelberg New York. Germany (1997), pp. 352-365

STETTER J.R., PENROSE W. R. "THE ELECTROCHEMICAL NOSE" Department of Biological, Chemical and Physical Sciences Illinois Institute of Technology - Chicago, 2001, IL 60616, USA

THOLL D., HOSSAIN O., WEINHOLD A., RÖSE U., WEI Q., 2021: Trends and applications in plant volatile sampling and analysis, *The Plant Journal*, 10.1111/tpj.15176, 0, 0

THOLL, D., BOLAND, W., HANSEL, A., LORETO, F., RÖSE, U.S.R., SCHNITZLER, J.-P., 2006: Practical approaches to plant volatile analysis. *The Plant Journal*, 45, 540– 560.

ÚRADNÍČEK L., MADĚRA P., TICHÁ S., KOBLÍŽEK J. 2009. Dřeviny České republiky. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce: 367 s.

VENTURA K., Příprava vzorku ve stopové analýze organických látek, Extrakce kapalinou, plynem, sorbetem, superkritická fluidní extrakce a chromatografie, skripta, Univerzita Pardubice 1995.

VIIRI H, LIEUTIER F (2004) Ophiostomatoid fungi associated with the spruce bark beetle, *Ips typographus*, in three areas in France. *Annals For Sci* 61:215–219

WAKED A., AFIF C., SEIGNEUR C. An atmospheric emission inventory of anthropogenic and biogenic sources for Lebanon *Atmos Environ*, 50 (2012), pp. 88-96

WANG, D.K.W., AUSTIN, C.C., 2006: Determination of complex mixtures of volatile organic compounds in ambient air: an overview *Anal. Bioanal. Chem.*, 386 pp. 1089-1098

WASILEWSKI T., GĘBICKI J., KAMYSZ W., Bioelectronic nose: Current status and perspectives, *Biosensors and Bioelectronics*, Volume 87, 2017, Pages 480-494,

WERMELINGER, B., 2004: Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus*—a review of recent research. *Forest Ecology and Management*, 202(1-3): 67–82.

WILSON, A.D. Diverse Applications of Electronic-Nose Technologies in Agriculture and Forestry. *Sensors* 2013, 13, 2295-2348. <https://doi.org/10.3390/s130202295>

ZAHRADNÍK, P., GERÁKOVÁ, M., 2010: Lýkožrout smrkový – *Ips typographus* (L.), Lesnická práce, 89 Příloha 1: 1–8

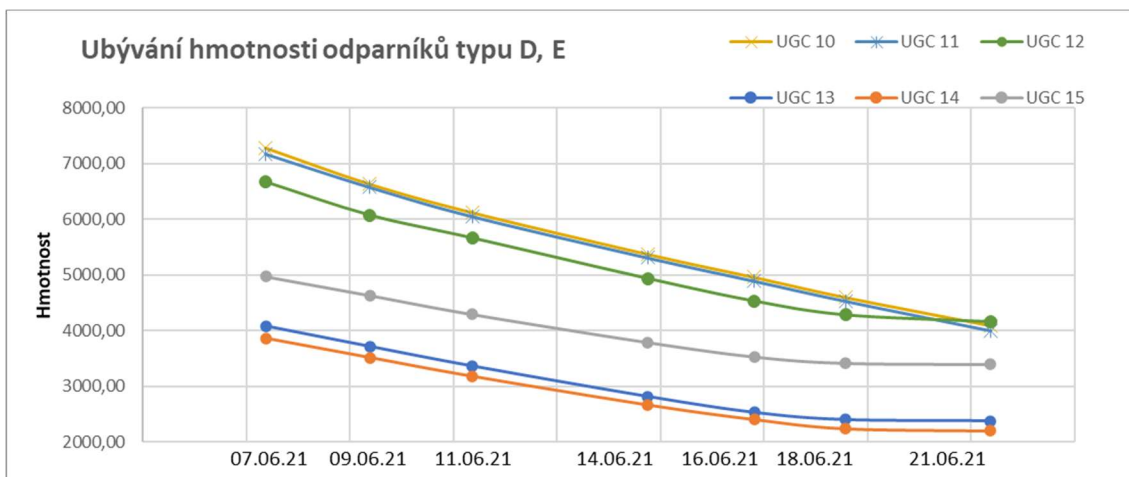
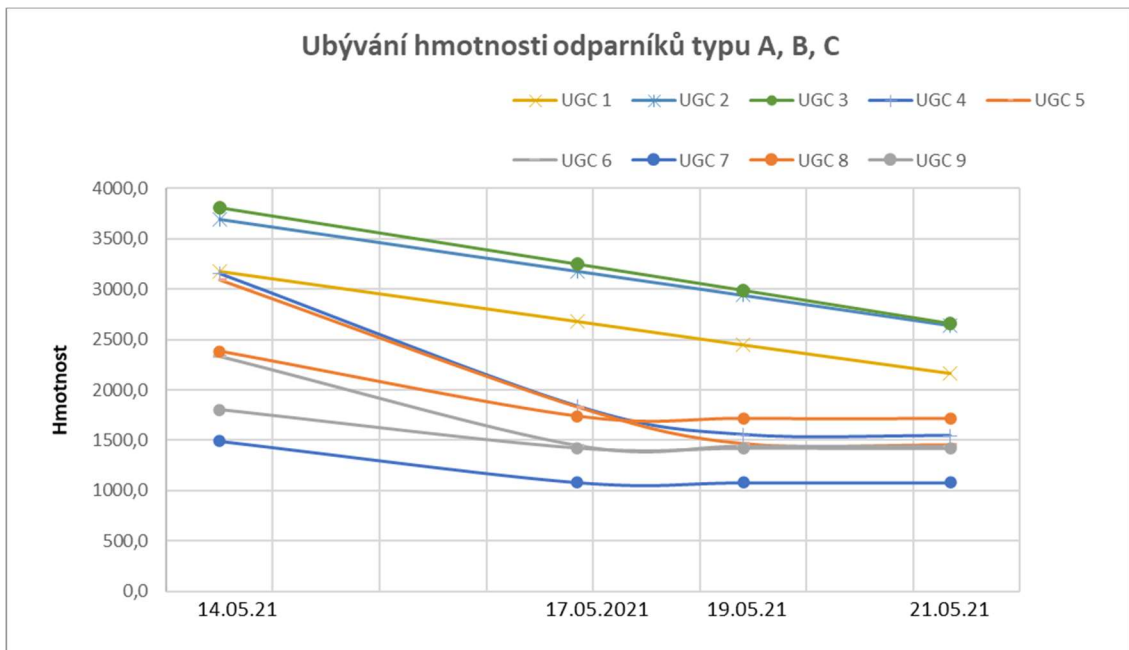
ZAHRADNÍK, P., KNÍŽEK, M., 2007: Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (L.). Lesnická práce, 86 Příloha 4: 1–8.

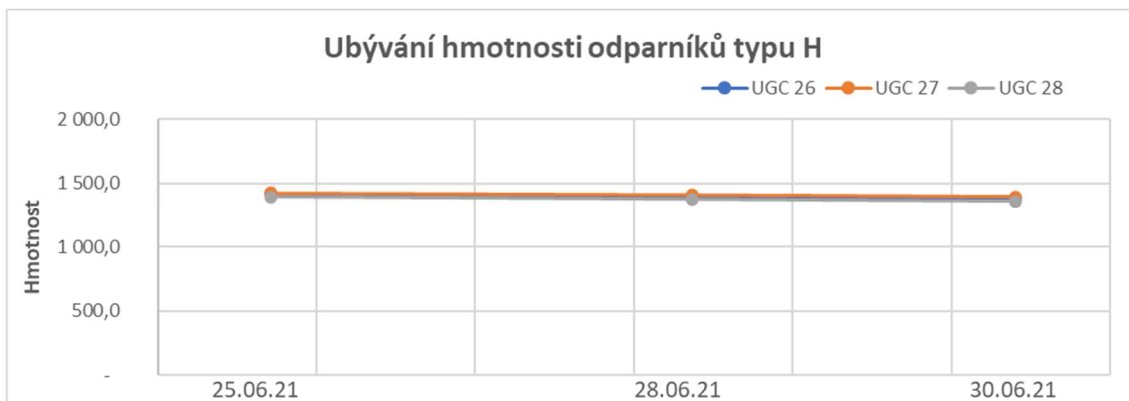
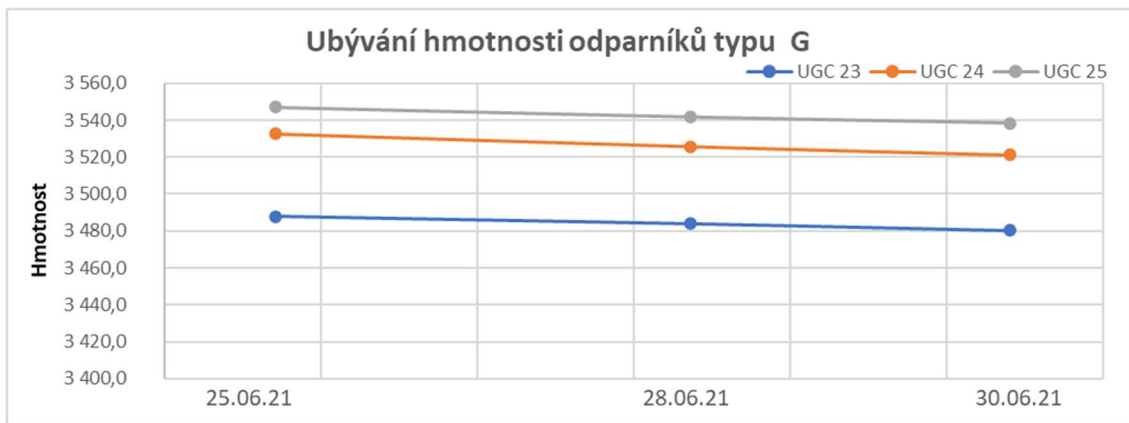
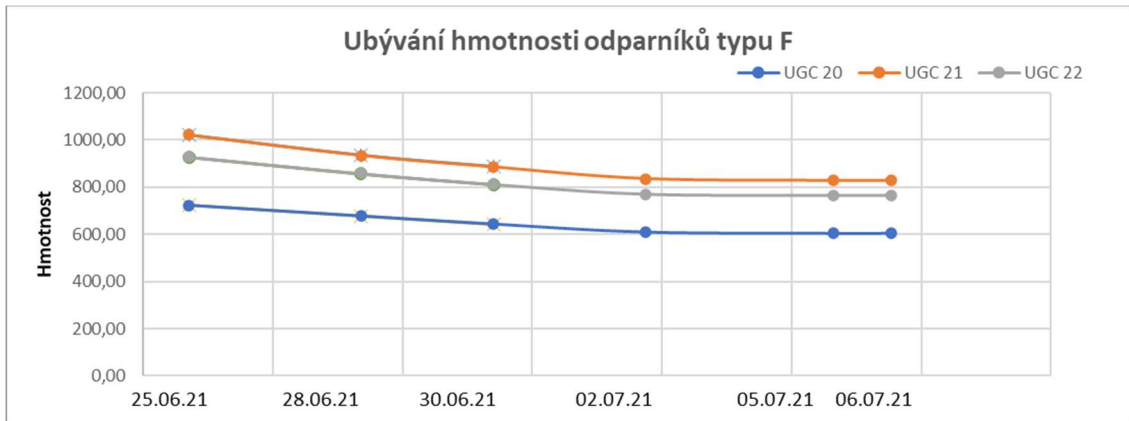
## 8. Seznam příloh

Příloha č. 1. grafické znázornění gravimetrické analýzy .....	76
Příloha č. 2. Gravimetrické šetření odparníků.....	78
Příloha č. 3. Gravimetrické šetření používaných odparníků (typ D) .....	79
Příloha č. 4. Tabulky s výsledky z měření (skleněný zvon).....	80
Příloha č. 5. Tabulky s výsledky z měření (Větrný tunel) .....	82
Příloha č. 6. Tabulky s výsledky z měření (Smrkový výřez) .....	88
Příloha č. 7. Tabulky s výsledky z měření (Falešný strom) .....	92
Příloha č. 8. Statistické šetření za pomoci programu statistika 13.5 .....	93
Příloha č. 9. Grafické znázornění měření na SPME vlákno ve třech vzdálenostech ...	99

## 9. Přílohy

### Příloha č. 1. grafické znázornění gravimetrické analýzy





Příloha č. 2. Gravimetrické šetření odparníků

Typ	Označení	Vážení			
		14.5.21 12:00	17.5.21 20:30	19.5.21 9:45	21.5.21 8:20
A	UGC 1	3179,2	2682,8	2451,3	2169,20
	UGC 2	3693,4	3179,0	2941,2	2642,10
	UGC 3	3805,1	3248,1	2990,0	2662,50
B	UGC 4	3154,7	1838,4	1557,1	1546,1
	UGC 5	3088,7	1831,8	1469,9	1456,6
	UGC 6	2335,5	1444,7	1437,8	1434,9
C	UGC 7	1 493,2	1 084,4	1 082,3	1 080,6
	UGC 8	2 381,7	1 738,4	1 714,8	1 712,9
	UGC 9	1 804,0	1 425,0	1 422,7	1 422,2

Typ	Označení	Vážení						
		7.6.21 9:00	9.6.21 9:15	11.6.21 8:50	14.6.21 18:10	16.6.21 19:30	18.6.21 13:41	21.6.21 9:00
D	UGC 10	7285,00	6635,00	6123,00	5373,86	4960,77	4600,00	4092,90
	UGC 11	7174,00	6576,00	6050,00	5306,69	4888,34	4529,00	3997,30
	UGC 12	6668,00	6073,00	5663,00	4936,62	4532,24	4285,00	4159,20
E	UGC 13	4 076,0	3 710,0	3 358,0	2 811,3	2 525,6	2 397,0	2 375,1
	UGC 14	3 858,0	3 514,0	3 180,0	2 667,5	2 407,1	2 243,0	2 202,2
	UGC 15	4 970,0	4 630,0	4 290,0	3 785,3	3 526,4	3 412,0	3 389,1

Typ	Označení	Vážení						
		25.6.21 17:00	28.6.21 8:45	30.6.21 9:38	2.7.21 18:00	5.7.21 15:30	6.7.21 13:00	
F	UGC 20	723,10	677,60	643,20	608,80	603,20	603,4	
	UGC 21	1021,60	934,70	885,60	835,40	827,60	827,5	
	UGC 22	927,50	857,30	811,90	770,80	766,00	765,9	
G	UGC 23	3 487,9	3 484,0	3 480,4				
	UGC 24	3 532,5	3 525,7	3 521,1				
	UGC 25	3 546,9	3 541,6	3 538,2				
H	UGC 26	1 418,0	1 398,2	1 381,5				
	UGC 27	1 423,8	1 410,6	1 396,9				
	UGC 28	1 394,1	1 374,2	1 358,3				
CH	UGC 29	359,6	356,9					
	UGC 30	324,3	322,3					
	UGC 31	307,9	305,6					

Příloha č. 3. Gravimetrické šetření používaných odparníků (typ D)

Označení	Vážení					
	18.6.21 8:30	21.6.21 9:00	23.6.21 8:54	25.6.21 17:00	28.6.21 8:45	30.6.21 9:38
<b>UGC 16</b>	6859,50	5913,70	5351,30	4773,80	4192,80	3751,30
<b>UGC 17</b>	6072,20	5221,50	4702,90	4147,00	3594,40	3238,40
<b>UGC 18</b>	7337,80	6314,10	5773,20	5198,40	4617,30	4178,20
<b>UGC 19</b>	6957,10	5942,50	5299,70	4681,70	4107,10	3687,30
	Vážení					
	1.7.21 8:45	2.7.21 18:00	5.7.21 15:30	6.7.21 13:00		
<b>UGC 32</b>	7216,00	6487,20	5288,70	4936,50		
<b>UGC 33</b>	6927,70	6261,50	5151,20	4831,00		
<b>UGC 34</b>	6805,10	5377,40	4864,60	4610,60		
<b>UGC 35</b>	6946,3	6274,1	5130,4	4799,8		
<b>UGC 36</b>	6838,3	6065,8	5067,6	4741,5		
<b>UGC 37</b>	6901,4	6241,4	5154,9	4847,3		
<b>UGC 38</b>	6878,1	5817,8	5163,8	4862,9		
<b>UGC 39</b>	6776,6	6167,0	4995,3	4670,6		
<b>UGC 40</b>	6929,9	6358,3	5176,6	4867,8		
<b>UGC 41</b>	6866,8	6246,3	5063,6	4742,7		

## Příloha č. 4. Tabulky s výsledky z měření (skleněný zvon)

18.06.2021, odparník: 10 + 11 + 12, průtok: 200 ml/min, čas: 15 min, proplach 1 000 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	139,95	209,60	625,87	937,39	1563,26
2	MB	2,78	91,74	132,44	268,64	387,80	656,44
3	Camphene	3,05	15,10	22,95	24,07	36,59	60,66
4	β-pinene	3,60	111,52	205,76	135,88	250,71	386,59
5	3-carene	4,22	7,72	26,85	12,81	44,56	57,37
6	Myrcene	4,50	0,20	22,23	0,29	32,40	32,69
7	S-limonene	5,03	0,89	34,07	1,59	60,62	62,20
8	1-8 cineole	5,22	1,97	4,93	3,50	8,78	12,29
	<b>Celkem</b>				<b>1069,15</b>	<b>1750,07</b>	<b>2819,21</b>

18.06.2021, odparník: 10, průtok: 200 ml/min, čas: 15 min, proplach 1 000 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	28,43	29,23	127,14	130,73	257,87
2	MB	2,78	40,27	35,67	117,93	104,44	222,37
3	Camphene	3,05	3,033	3,198	4,84	5,10	9,93
4	β-pinene	3,60	29,74	31,33	36,23	38,18	74,41
5	3-carene	4,22	6,049	6,416	10,04	10,65	20,68
6	Myrcene	4,50	5,887	23,07	8,58	33,62	42,20
7	S-limonene	5,03	13,50	25,75	24,01	45,81	69,82
8	1-8 cineole	5,22	0,936	1,018	1,67	1,81	3,48
	<b>Celkem</b>				<b>328,76</b>	<b>368,52</b>	<b>697,28</b>

18.06.2021, odparník: 11, průtok: 200 ml/min, čas: 15 min, proplach 1 000 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	19,40	4,510	86,78	20,17	106,95
2	MB	2,78	71,19	13,63	208,47	39,90	248,37
3	Camphene	3,05	2,529	0,605	4,03	0,96	5,00
4	β-pinene	3,60	21,67	5,310	26,41	6,47	32,88
5	3-carene	4,22	2,042	0,674	3,39	1,12	4,51
6	Myrcene	4,50	0,707	0,750	1,03	1,09	2,12
7	S-limonene	5,03	1,367	1,004	2,43	1,79	4,22
8	1-8 cineole	5,22	1,147	0,317	2,04	0,56	2,61
	<b>Celkem</b>				<b>332,54</b>	<b>71,51</b>	<b>404,04</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek



07.07.2021, odparník: 32 + 33 + 34 + MB, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1 500 µl

Tenax tandem	Složení	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	71,69	64,75	136,44
2	MB	58,76	48,76	107,52
3	Camphene	7,62	7,00	14,62
4	β-pinene	61,34	56,53	117,87
5	3-carene	9,75	9,21	18,96
6	Myrcene	3,72	29,53	33,25
7	S-limonene	12,90	35,11	48,01
8	1-8 cineole	1,47	1,49	2,96
	<b>Celkem</b>	<b>225,78</b>	<b>250,89</b>	<b>476,67</b>

07.07.2021, odparník: 32 + 33 + 34, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1 500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	59,35	53,71	265,45	240,18	505,63
3	Camphene	3,06	6,442	5,880	10,27	9,37	19,64
4	β-pinene	3,60	51,06	46,47	62,22	56,62	118,84
5	3-carene	4,22	7,500	6,808	12,44	11,30	23,74
6	Myrcene	4,50	5,823	24,46	8,49	35,65	44,13
7	S-limonene	5,03	14,20	25,36	25,25	45,11	70,37
8	1-8 cineole	5,21	1,228	1,138	2,19	2,03	4,22
	<b>Celkem</b>				<b>384,12</b>	<b>398,24</b>	<b>782,35</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

Příloha č. 5. Tabulky s výsledky z měření (Větrný tunel)

24.06.2021, kontrolní vzorek, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství * µg	Spodní množství * µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0,100	0,048	0,45	0,21	0,66
	<b>Celkem</b>				<b>0,45</b>	<b>0,21</b>	<b>0,66</b>

24.06.2021, odparník: 18, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství * µg	Spodní množství * µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,116	0,219	0,52	0,98	1,50
4	β-pinene	3,60	0	0,183	0,00	0,22	0,22
5	3-carene	4,23	0	0,067	0,00	0,11	0,11
7	S-limonene	5,03	0	0,071	0,00	0,13	0,13
	<b>Celkem</b>				<b>0,52</b>	<b>1,44</b>	<b>1,96</b>

24.06.2021, odparník: 19, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství * µg	Spodní množství * µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0,042	0,334	0,19	1,49	1,68
4	β-pinene	3,59	0	0,264	0,00	0,32	0,32
5	3-carene	4,22	0	0,068	0,00	0,11	0,11
8	1-8 cineole	5,21	0	0,081	0,00	0,14	0,14
	<b>Celkem</b>				<b>0,19</b>	<b>1,93</b>	<b>2,12</b>

24.06.2021, odparník: 20, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství * µg	Spodní množství * µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0,042	0,165	0,19	0,74	0,93
2	MB	0	0,07	0	0,20	0,00	0,20
4	β-pinene	3,59	0	0,119	0,00	0,14	0,14
7	S-limonene	5,02	0	0,069	0,00	0,12	0,12
	<b>Celkem</b>				<b>0,39</b>	<b>1,01</b>	<b>1,40</b>

24.06.2021, odparník: 23, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství * µg	Spodní množství * µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0	0,062	0,00	0,28	0,28
	<b>Celkem</b>				<b>0,00</b>	<b>0,28</b>	<b>0,28</b>

24.06.2021, odparník: 27, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství * µg	Spodní množství * µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0	0,122	0,00	0,55	0,55
	<b>Celkem</b>				<b>0,00</b>	<b>0,55</b>	<b>0,55</b>

24.06.2021, odparník: 29, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství * µg	Spodní množství * µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0	0,117	0,00	0,52	0,52
	<b>Celkem</b>				<b>0,00</b>	<b>0,52</b>	<b>0,52</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

28.06.2021, odparník: 18 ležící, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, 2 proplachy 600 µl, proud vzduchu 0,8 m/s

Tenax	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů 1 proplach	Plochy vrcholů 2 proplachu	První proplach množství* µg	Druhý proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0,430	0,082	1,92	0,37	2,29
3	Camphene	3,05	0,074	0	0,12	0,00	0,12
4	β-pinene	3,59	0,343	0,077	0,42	0,09	0,51
5	3-carene	4,22	0,093	0,034	0,15	0,06	0,21
7	S-limonene	5,04	0,069	0	0,12	0,00	0,12
	<b>Celkem</b>				<b>2,74</b>	<b>0,52</b>	<b>3,25</b>

28.06.2021, odparník: 18 +17 + 16, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, 2 proplachy 600 µl, proud vzduchu 0,2 m/s

Tenax	Složení	První proplach množství* µg	Druhý proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	3,46	0,71	4,16
3	Camphene	4,52	0,13	4,65
4	β-pinene	3,74	0,87	4,61
5	3-carene	0,52	0,08	0,61
6	Myrcene	0,36	0,02	0,38
7	S-limonene	0,71	0,08	0,79
8	1-8 cineole	0,05	0,00	0,05
	<b>Celkem</b>	<b>13,31</b>	<b>1,88</b>	<b>15,19</b>

28.06.2021, odparník: 18 +17, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, 2 proplachy 600 µl, proud vzduchu 0,3 m/s

Tenax	Složení	První proplach množství* µg	Druhý proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	0,785	0,178	0,96
3	Camphene	0,074	0,000	0,07
4	β-pinene	0,696	0,163	0,86
5	3-carene	0,192	0,000	0,19
6	Myrcene	0,044	0,000	0,04
	<b>Celkem</b>	<b>1,79</b>	<b>0,34</b>	<b>2,13</b>

28.06.2021, odparník: 18, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, 2 proplachy 600 µl, proud vzduchu 0,4 m/s

Tenax	Složení	První proplach množství* µg	Druhý proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,132	0,740	2,87
3	Camphene	0,385	0,104	0,49
4	β-pinene	2,102	0,681	2,78
5	3-carene	0,355	0,148	0,50
7	S-limonene	0,000	0,178	0,18
	<b>Celkem</b>	<b>4,97</b>	<b>1,85</b>	<b>6,83</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

29.06.2021, odparník: 18, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0,093	0,343	0,42	1,53	1,95
3	Camphene	3,06	0,051	0	0,08	0,00	0,08
4	β-pinene	3,59	0,262	0	0,32	0,00	0,32
5	3-carene	4,22	0,067	0	0,11	0,00	0,11
6	Myrcene	5,04	0,067	0	0,10	0,00	0,10
	<b>Celkem</b>				<b>1,03</b>	<b>1,53</b>	<b>2,56</b>

29.06.2021, odparník: 18 + 17, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,605	1,262	2,71	5,64	8,35
3	Camphene	3,05	0,090	0,181	0,14	0,29	0,43
4	β-pinene	3,59	0,260	1,154	0,32	1,41	1,72
5	3-carene	4,22	0	0,115	0,00	0,19	0,19
6	Myrcene	4,49	0	0,105	0,00	0,15	0,15
7	S-limonene	5,02	0	0,080	0,00	0,14	0,14
8	1-8 cineole	5,21	0	0,042	0,00	0,07	0,07
	<b>Celkem</b>				<b>3,17</b>	<b>7,82</b>	<b>10,99</b>

29.06.2021, odparník: 18 + 17 + 16, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	1,038	1,754	4,64	7,84	12,49
3	Camphene	3,05	0,147	0,213	0,23	0,34	0,57
4	β-pinene	3,60	0,585	1,656	0,71	2,02	2,73
5	3-carene	4,22	4,22	0,193	7,00	0,32	7,32
6	Myrcene	4,50	4,50	0,115	6,56	0,17	6,72
7	S-limonene	5,03	5,03	0,206	8,95	0,37	9,32
	<b>Celkem</b>				<b>28,09</b>	<b>11,06</b>	<b>39,15</b>

29.06.2021, odparník: 18 + 17 + 16, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Anasorb tandem	Složení	Horní kolonka množství* µg	Spodní kolonka množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	0,000	42,730	42,73
3	Camphene	0,000	4,890	4,89
4	β-pinene	0,000	30,620	30,62
5	3-carene	0,000	1,820	1,82
6	Myrcene	0,000	0,600	0,60
7	S-limonene	0,000	1,530	1,53
8	1-8 cineole	0,000	0,440	0,44
	<b>Celkem</b>	<b>0,00</b>	<b>82,19</b>	<b>82,19</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

29.06.2021, odparník: 26 + 27 + 28, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax	Složení	Celkem množství* µg
1	α-pinene	0,228
4	β-pinene	0,164
5	3-carene	0,065
7	S-limonene	0,064
	<b>Celkem</b>	<b>0,52</b>

29.06.2021, odparník: 18 + 17, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Anasorb tandem	Složení	Horní kolonka množství* µg	Spodní kolonka množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	0,059	1,242	1,30
3	Camphene	0	0,151	0,15
4	β-pinene	0	1,007	1,01
5	3-carene	0	0,098	0,10
7	S-limonene	0	0,139	0,14
	<b>Celkem</b>	<b>0,06</b>	<b>2,64</b>	<b>2,70</b>

30.06.2021, odparník: 3x MB, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax tandem	Složení	Horní kolonka množství* µg	Spodní kolonka 1 proplach Množství* µg	Spodní kolonka 2 proplach Množství* µg	Celkem množství* µg
2	MB	1,042	0,389	0,000	1,43
	<b>Celkem</b>	<b>1,04</b>	<b>0,39</b>	<b>0,00</b>	<b>1,43</b>

30.06.2021, odparník: 32 + 33 + 34, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Anasorb tandem	Složení	Horní kolonka množství* µg	Spodní kolonka 1 proplach Množství* µg	Spodní kolonka 2 proplach Množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	0,764	1,583	0,204	2,55
3	Camphene	0,000	0,218	0,000	0,22
4	β-pinene	0,617	1,232	0,194	2,04
5	3-carene	0,104	0,329	0,000	0,43
6	Myrcene	0,000	0,154	0,000	0,15
7	S-limonene	0,215	0,606	0,232	1,05
	<b>Celkem</b>	<b>1,70</b>	<b>4,12</b>	<b>0,63</b>	<b>6,45</b>

30.06.2021, odparník: 32 + 33 + 34, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1000 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax tandem	Složení	Horní kolonka množství* µg	Spodní kolonka 1 proplach Množství* µg	Spodní kolonka 2 proplach Množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,590	2,998	0,000	5,59
3	Camphene	0,250	0,369	0,000	0,62
4	β-pinene	1,384	2,914	0,000	4,30
5	3-carene	0,104	0,740	0,000	0,84
6	Myrcene	0,000	1,054	0,000	1,05
7	S-limonene	0,215	2,402	0,000	2,62
	<b>Celkem</b>	<b>4,54</b>	<b>10,48</b>	<b>0,00</b>	<b>15,02</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

01.07.2021, odparník: 3x MB, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Anasorb tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony 1 proplach	Plochy vrcholů spodní kolony 2 proplach	Horní množství* µg	Spodní 1 proplach množství* µg	Spodní 2 proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene					0,00	0,00	0,00	0,00
2	MB	2,688	0,064	0,184	0,058	0,19	0,54	0,17	0,36
	<b>Celkem</b>					<b>0,19</b>	<b>0,54</b>	<b>0,17</b>	<b>0,36</b>

01.07.2021, odparník: 34 + 35 + 36 + 3xMB, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony 1 proplach	Plochy vrcholů spodní kolony 2 proplach	Horní množství* µg	Spodní 1 proplach množství* µg	Spodní 2 proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,107	0,979	0	0,48	4,38	0,00	4,86
2	MB	2,78	0,125	0,284	0	0,37	0,83	0,00	1,20
3	Camphene	3,05	0,112	0,103	0	0,18	0,16	0,00	0,34
4	β-pinene	3,60	0	0,709	0	0,00	0,86	0,00	0,86
5	3-carene	4,22	0	0,135	0	0,00	0,22	0,00	0,22
6	Myrcene	4,50	0	0,094	0	0,00	0,14	0,00	0,14
7	S-limonene	5,03	0	0,244	0	0,00	0,43	0,00	0,43
	<b>Celkem</b>					<b>1,02</b>	<b>7,03</b>	<b>0,00</b>	<b>8,60</b>

01.07.2021, odparník: 34 + 35 + 36 + 3x MB, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Anasorb tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony 1 proplach	Plochy vrcholů spodní kolony 2 proplach	Horní množství* µg	Spodní 1 proplach množství* µg	Spodní 2 proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	3,393	2,344	0,493	15,17	10,48	2,20	27,86
2	MB	2,78	0,468	0,318	0,137	1,37	0,93	0,40	2,70
3	Camphene	3,05	0,346	0,182	0,091	0,55	0,29	0,15	0,99
4	β-pinene	3,60	0	0,686	0,402	0,00	0,84	0,49	1,33
5	3-carene	4,22	0	0	0,074	0,00	0,00	0,12	0,12
6	Myrcene	4,50	0	0	0,086	0,00	0,00	0,13	0,13
7	S-limonene	5,03	0	0	0,202	0,00	0,00	0,36	0,36
	<b>Celkem</b>					<b>17,10</b>	<b>12,54</b>	<b>3,85</b>	<b>33,48</b>

07.07.2021, odparník: 35 + 36 + 37, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1 500 µl, průtok vzduchu 0,3m/s

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	1,37	1,35	6,14	6,06	12,19
3	Camphene	3,05	0,16	0,20	0,25	0,31	0,56
4	β-pinene	3,60	0,84	1,33	1,02	1,63	2,65
5	3-carene	4,22	0,15	0,26	0,25	0,42	0,67
6	Myrcene	4,49	0,00	0,20	0,00	0,30	0,30
7	S-limonene	5,03	0,00	0,42	0,00	0,74	0,74
8	1-8 cineole	5,20	0,00	0,10	0,00	0,17	0,17
	<b>Celkem</b>				<b>7,65</b>	<b>9,45</b>	<b>17,10</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

07.07.2021, odparník: 22, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1 500 µl, průtok vzduchu 0,3m/s

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,56	0,642	0,106	2,87	0,47	3,35
3	Camphene	3,05	0,130	0,115	0,21	0,18	0,39
4	β-pinene	3,60	0,664	0	0,81	0,00	0,81
5	3-carene	4,22	0,193	0,042	0,32	0,07	0,39
6	Myrcene	4,50	0,412	0	0,60	0,00	0,60
7	S-limonene	5,03	0,517	0	0,92	0,00	0,92
	<b>Celkem</b>				<b>5,73</b>	<b>0,73</b>	<b>6,45</b>

08.07.2021, odparník: 40 + 41, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1 500 µl

Tenax tandem	Složení	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,31	2,25	4,56
3	Camphene	0,00	0,22	0,22
4	β-pinene	1,88	2,36	4,24
5	3-carene	0,00	0,47	0,47
6	Myrcene	0,00	0,36	0,36
7	S-limonene	0,00	0,62	0,62
8	1-8 cineole	0,00	0,00	0,00
	<b>Celkem</b>	<b>4,19</b>	<b>6,28</b>	<b>10,47</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

## Příloha č. 6. Tabulky s výsledky z měření (Smrkový výřez)

23.06.2021, na výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl, na výřezu

Porapak	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,836	1,234	3,73	5,51	9,24
2	MB	2,78	0,107	0,162	0,31	0,47	0,78
3	Camphene	3,05	0	0,058	0	0,09	0,09
4	β-pinene	3,60	0,114	0,342	0,17	0,41	0,58
5	3-carene	4,22	0,073	0,121	0,12	0,20	0,32
8	1-8 cineole	5,22	2,616	1,821	4,66	3,24	7,90
	<b>Celkem</b>				<b>4,33</b>	<b>6,68</b>	<b>11,01</b>

23.06.2021, 20 cm od výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Porapak	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,561	0,688	2,50	3,07	5,57
2	MB	2,78	0,242	0,260	0,7	0,76	1,46
4	β-pinene	3,60	0,140	0,124	0,17	0,151	0,32
5	3-carene	4,22	0,074	0,092	0,12	0,15	0,27
8	1-8 cineole	5,22	1,643	1,833	2,92	3,26	6,18
	<b>Celkem</b>				<b>3,49</b>	<b>4,13</b>	<b>7,62</b>

23.06.2021, na výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax komerční	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,058	1,188	0,25	5,31	5,56
2	MB	2,78	0,266	0,134	0,77	0,39	1,16
4	β-pinene	3,51	0,084	0,626	0,10	0,76	0,86
5	3-carene	0	0	0,184	0	0,30	0,30
7	S-limonene	0	0	0,103	0	0,18	0,18
8	1-8 cineole	5,11	0,209	0,119	0,37	0,21	0,58
	<b>Celkem</b>				<b>1,12</b>	<b>6,94</b>	<b>8,06</b>

23.06.2021, 20 cm od výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax komerční	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolony	Plochy vrcholů spodní kolony	Horní množství* µg	Spodní µg0,6ml	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,565	0,169	0,304	0,75	1,35	2,10
4	β-pinene	3,595	0,189	0,209	0,23	0,25	0,48
5	3-carene	4,214	0	0,052	0	0,08	0,08
	<b>Celkem</b>				<b>0,98</b>	<b>1,68</b>	<b>2,66</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek



23.06.2021, na výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Heyesep	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,282	1,271	1,26	5,68	6,94
2	MB	2,79	0,184	0,164	0,53	0,48	1,01
3	Camphene	3,06	0	0,041	0	0,06	0,06
4	β-pinene	3,59	0	0,545	0	0,66	0,66
5	3-carene	4,22	0	0,162	0	0,26	0,26
7	S-limonene	5,02	0	0,073	0	0,12	0,12
8	1-8 cineole	5,17	0,108	0,173	0,19	0,3	0,49
	<b>Celkem</b>				<b>1,79</b>	<b>7,26</b>	<b>9,05</b>

23.06.2021, 20 cm od výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Heyesep	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,802	0,374	3,58	1,67	5,25
2	MB	2,76	0,126	0,108	0,36	0,31	0,67
4	β-pinene	3,52	0,222	0,104	0,27	0,12	0,39
8	1-8 cineole	5,21	2,593	0	4,61	0	4,61
	<b>Celkem</b>				<b>4,21</b>	<b>2,10</b>	<b>6,31</b>

23.06.2021, přímo na výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax vlastní výroby	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,092	0,600	0,41	2,60	3,01
2	MB	2,79	0,073	0,088	0,21	0,25	0,46
3	Camphene	3,59	0,105	0,403	0,12	0,49	0,61
4	β-pinene	4,22	0	0,135	0	0,22	0,22
5	3-carene	4,50	0	0,066	0	0,09	0,09
6	Myrcene	5,03	0	0,095	0	0,16	0,16
7	S-limonene	5,18	0	0,108	0	0,19	0,19
	<b>Celkem</b>				<b>0,74</b>	<b>4,00</b>	<b>4,74</b>

23.06.2021, 20 cm od výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 600 µl

Tenax vlastní výroby	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,57	0,072	0,368	0,32	1,60	1,92
2	MB	2,79	0,050	0,038	0,14	0,11	0,25
3	Camphene	3,60	0,074	0,304	0,09	0,37	0,46
4	β-pinene	4,22	0	0,187	0	0,31	0,31
5	3-carene	5,02	0	0,054	0	0,09	0,09
6	Myrcene	5,18	0	0,069	0	0,12	0,12
	<b>Celkem</b>				<b>0,55</b>	<b>2,60</b>	<b>3,15</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

01.11.2021, infikovaný výřez (pravá strana), průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,66	0,053	0,028	0,23	0,12	0,35
2	MB	2,88	0	0,056		0,16	0,16
3	Camphene	3,02	0,204	0,195	0,32	0,31	0,63
4	β-pinene	3,65	0,079	0	0,09	0	0,09
6	Myrcene	4,74	0,029	0	0,04	0	0,04
8	1-8 cineole	5,30	0,089	0,118	0,15	0,21	0,36
	<b>Celkem</b>				<b>0,83</b>	<b>0,80</b>	<b>1,63</b>

01.11.2021, 30 cm od infikovaného výřezu (pravá strana), průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,65	0,042	0	0,18	0	0,18
3	Camphene	3,01	0,215	0,294	0,34	0,46	0,80
4	β-pinene	3,65	0	0	0,161	0,19	0,35
6	Myrcene	3,64	0,110	0	0,16	0	0,16
8	1-8 cineole	5,30	0,096	0,121	0,17	0,21	0,38
	<b>Celkem</b>				<b>1,01</b>	<b>0,86</b>	<b>1,87</b>

01.11.2021, infikovaný výřez (pravá strana), průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní µg1,5ml	spodní µg1,5ml	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,67	0,134	0,130	0,59	0,58	1,17
3	Camphene	3,02	0,201	0,212	0,32	0,33	0,65
8	1-8 cineole	5,30	0,115	0	0,2	0	0,20
	<b>Celkem</b>				<b>1,11</b>	<b>0,91</b>	<b>2,02</b>

01.11.2021, infikovaný výřez (levá strana), průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,66	0,147	0,136	0,65	0,60	1,25
3	Camphene	3,01	0,222	0,177	0,35	0,28	0,63
5	3-carene	4,27	0	0,036	0	0,59	0,59
8	1-8 cineole	5,31	0	0,079	0	0,14	0,14
	<b>Celkem</b>				<b>1,00</b>	<b>1,61</b>	<b>2,61</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

01.11.2021, 30 cm od infikovaného výřezu (levá strana), průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,63	0	0,062	0	0,27	0,27
2	MB	2,71	0	0,028	0	0,08	0,08
3	Camphene	3,00	0,185	0,318	0,29	0,50	0,79
4	β-pinene	3,64	0,071	0	0,08	0	0,08
8	1-8 cineole	5,29	0,145	0,084	0,15	0,25	0,40
	<b>Celkem</b>				<b>0,52</b>	<b>1,10</b>	<b>1,62</b>

01.11.2021, infikovaný výřez (levá strana), průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,67	0,149	0,163	0,66	0,72	1,38
2	MB	2,87	0,038	0,047	0,11	0,13	0,24
3	Camphene	3,02	0,162	0,215	0,25	0,34	0,59
4	β-pinene	3,75	0,070	0,065	0,08	0,07	0,15
5	3-carene	4,27	0,049	0,066	0,81	0,10	0,91
6	Myrcene	4,40	0,046	0	0,06	0	0,06
7	S-limonene	4,98	0,058	0	0,10	0	0,10
8	1-8 cineole	5,30	0,086	0,124	0,15	0,22	0,37
	<b>Celkem</b>				<b>2,07</b>	<b>1,58</b>	<b>3,80</b>

01.11.2021, infikovaný výřez (pravá strana), průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,67	0,125	0,143	0,57	0,63	1,20
3	Camphene	3,02	0,181	0,221	0,28	0,35	0,63
5	3-carene	4,27	0	0,034	0	0,06	0,06
8	1-8 cineole	5,30	0,083	0	0,14	0	0,14
	<b>Celkem</b>				<b>0,99</b>	<b>1,04</b>	<b>2,03</b>

01.11.2021, 30 cm od infikovaného výřezu, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,65	0,020	0,049	0,08	0,21	0,29
3	Camphene	3,01	0,187	0,178	0,29	0,28	0,57
4	β-pinene	3,64	0,096	0,070	0,11	0,08	0,19
8	1-8 cineole	5,30	0,084	0,130	0,14	0,23	0,37
	<b>Celkem</b>				<b>0,48</b>	<b>0,57</b>	<b>1,42</b>

\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

## Příloha č. 7. Tabulky s výsledky z měření (Falešný strom)

01.07.2021, odparník: 34 + 35 + MB, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl, průtok vzduchu 0,3 m/s

Tenax tandem	Složení	RT (min)	Plochy vrcholů horní kolonky	Plochy vrcholů spodní kolonky 1 proplach	Plochy vrcholů spodní kolonky 2 proplach	Horní množství* µg	Spodní 1 proplach množství* µg	Spodní 2 proplach množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	2,566	0,086	0,065	0	0,38	0,29	0,00	0,68
2	MB	2,779	0,236	0,142	0	0,69	0,42	0,00	0,69
	<b>Celkem</b>					<b>1,08</b>	<b>0,71</b>	<b>0,00</b>	<b>1,37</b>

08.07.2021 venkovní odběr, odparník: 35 + 36 + 37 + 40 + 41, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1500 µl

Tenax tandem	Složení	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	0	0	0,00
3	Camphene	0	0	0,00
4	β-pinene	0	0	0,00
5	3-carene	0	0	0,00
6	Myrcene	0	0	0,00
7	S-limonene	0	0	0,00
8	1-8 cineole	0	0	0,00
	<b>Celkem</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>

08.07.2021, vnitřní odběr, odparník: 35 + 36 + 37 + 40 + 41, průtok: 100 ml/min, čas: 10 min, proplach 1 500 µl

Tenax tandem	Složení	Horní množství* µg	Spodní množství* µg	Celkem množství* µg
1	α-pinene	0,17	0,255	0,43
3	Camphene	0	0	0,00
4	β-pinene	0,214	0,321	0,54
5	3-carene	0	0	0,00
6	Myrcene	0	0	0,00
7	S-limonene	0	0	0,00
8	1-8 cineole	0	0	0,00
	<b>Celkem</b>	<b>0,38</b>	<b>0,58</b>	<b>0,96</b>

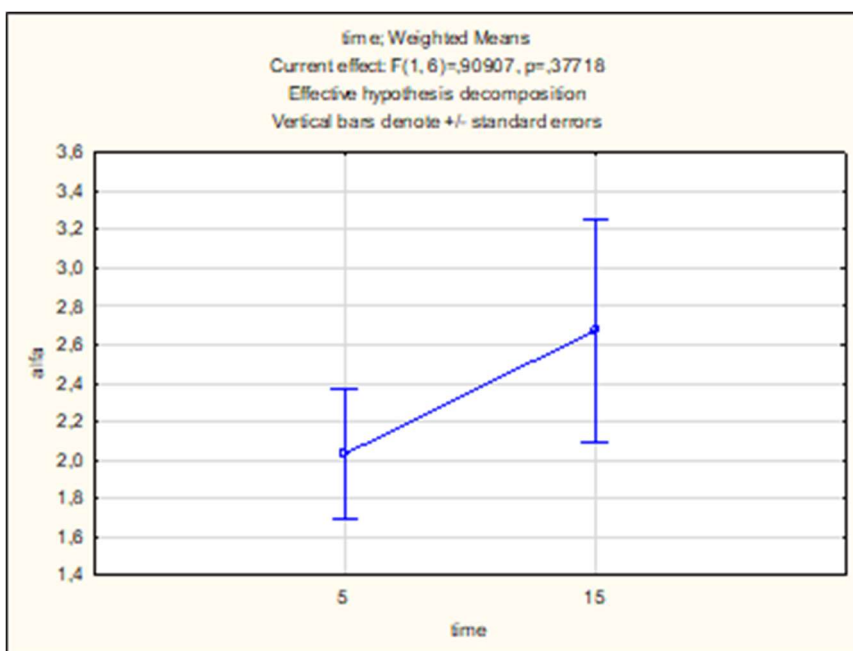
\*Celkové množství látky sorbované systémem za testovaných podmínek

## Příloha č. 8. Statistické šetření za pomoci programu statistika 13.5

### Šetření za pomoci SPME vlákna po dobu 5 a 15 min, $\alpha$ -pinene

Cell No.	time; LS Means (Spreadsheet70) Current effect: F(1, 6)=,90907, p=,37718 Effective hypothesis decomposition					
	Čas (min)	Průměr	Standardní chyba	-95,00%	+95,00%	N
1	5	2,032500	0,476497	0,866555	3,198445	4
2	15	2,675000	0,476497	1,509055	3,840945	4

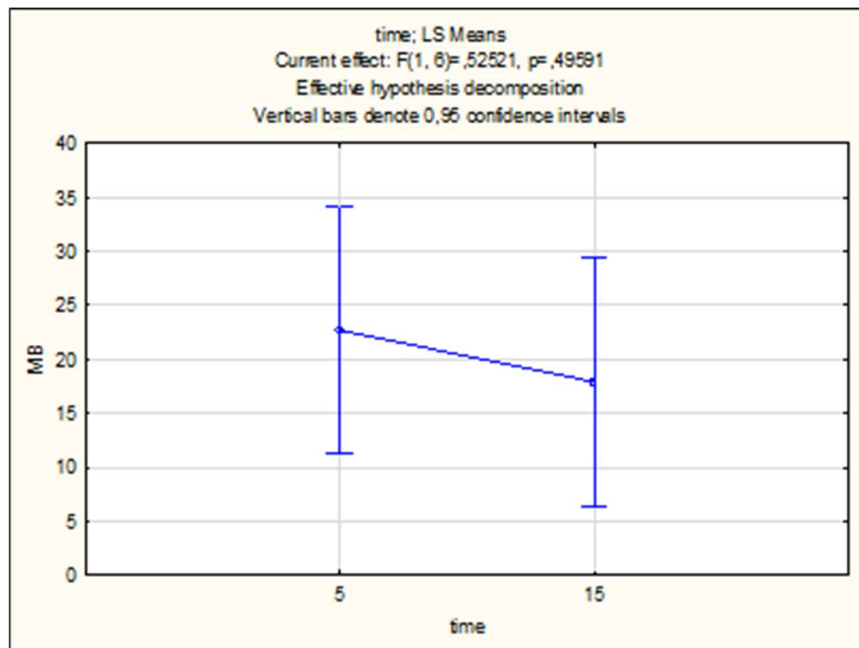
### Grafické znázornění Šetření za pomoci SPME vlákna po dobu 5 a 15 min, $\alpha$ -pinene



Šetření za pomoci SPME vlákna po dobu 5 a 15 min, MB

Cell No.	time; LS Means (Spreadsheet70) Current effect: F(1, 6)=,52521, p=,49591 Effective hypothesis decomposition					
	Čas (min)	Průměr	Standardní chyba	-95,00%	+95,00%	N
1	5	22,70000	4,680964	11,24609	34,15391	4
2	15	17,90250	4,680964	6,44859	29,35641	4

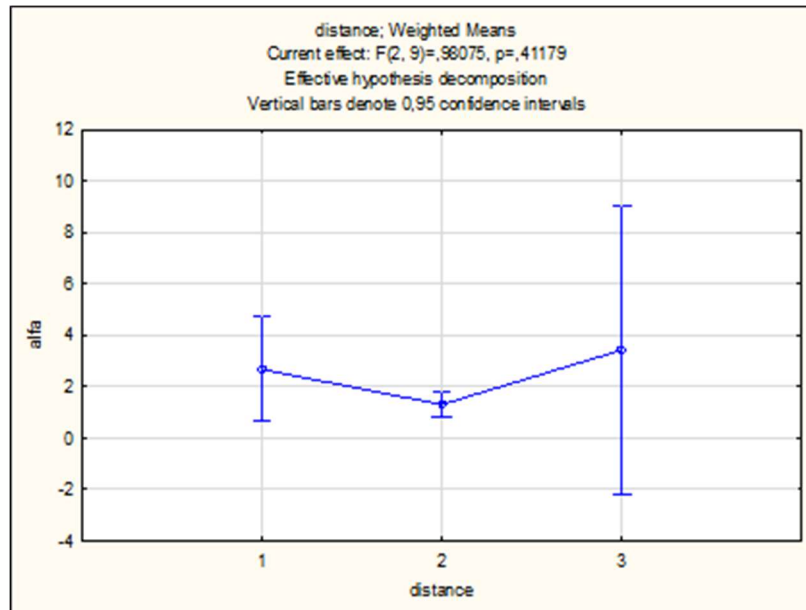
Grafické znázornění Šetření za pomoci SPME vlákna po dobu 5 a 15 min, MB



Šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech,  $\alpha$ -pinene

Cell No.	distance; Weighted Means (Spreadsheet70) Current effect: $F(2, 9)=,98075$ , $p=,41179$ Effective hypothesis decomposition					
	Vzdálenost (m)	Průměr	Standardní chyba	-95,00%	+95,00%	N
1	0,1	2,670000	0,642417	0,62554	4,714459	4
2	1	1,297500	0,151073	0,81672	1,778280	4
3	2	3,417500	1,760972	-2,18670	9,021699	4

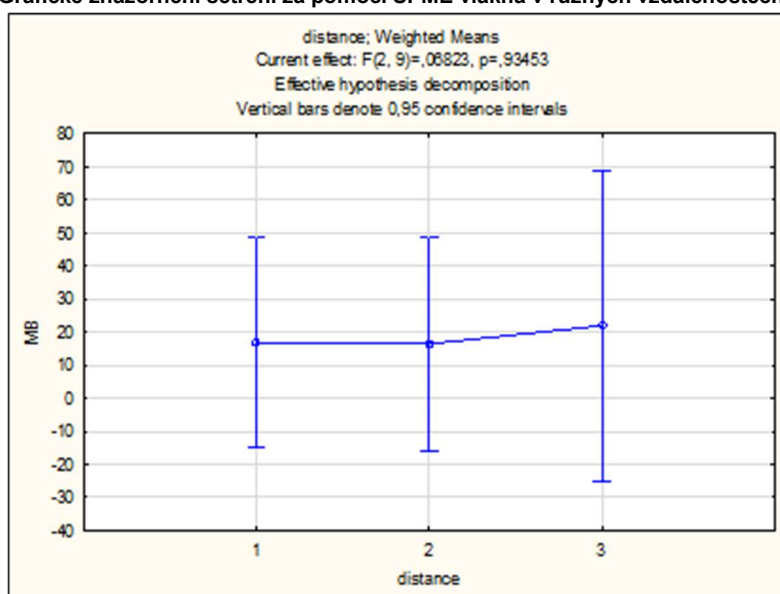
Grafické znázornění šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech,  $\alpha$ -pinene



**Šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech, MB**

distance; Weighted Means (Spreadsheet70) Current effect: F(2, 9)=,06823, p=,93453 Effective hypothesis decomposition						
	Vzdálenost (m)	Průměr	Standardní chyba	-95,00%	+95,00%	N
1	0,1	16,762500	10,021627	-15,13079	48,655790	4
2	1	16,477500	10,157428	-15,84797	48,802969	4
3	2	21,980000	14,777304	-25,04798	69,007977	4

**Grafické znázornění šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech, MB**

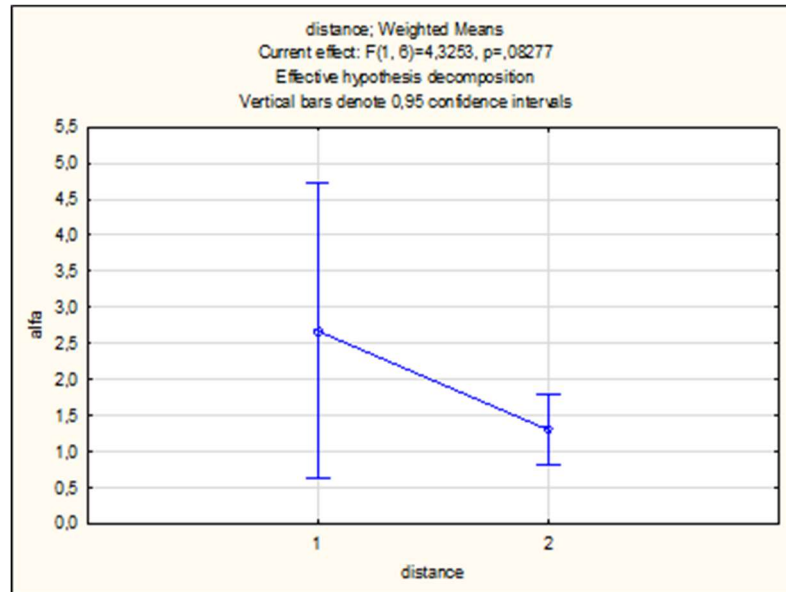




Šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech (0,1 a 1 m),  $\alpha$ -pinene

Cell No.	distance; Weighted Means (Spreadsheet70) Current effect: $F(1, 6)=4,3253$ , $p=,08277$ Effective hypothesis decomposition					
	Vzdálenost (m)	Průměr	Standardní chyba	-95,00%	+95,00%	N
1	0,1	2,670000	0,642417	0,625541	4,714459	4
2	1	1,297500	0,151073	0,816720	1,778280	4

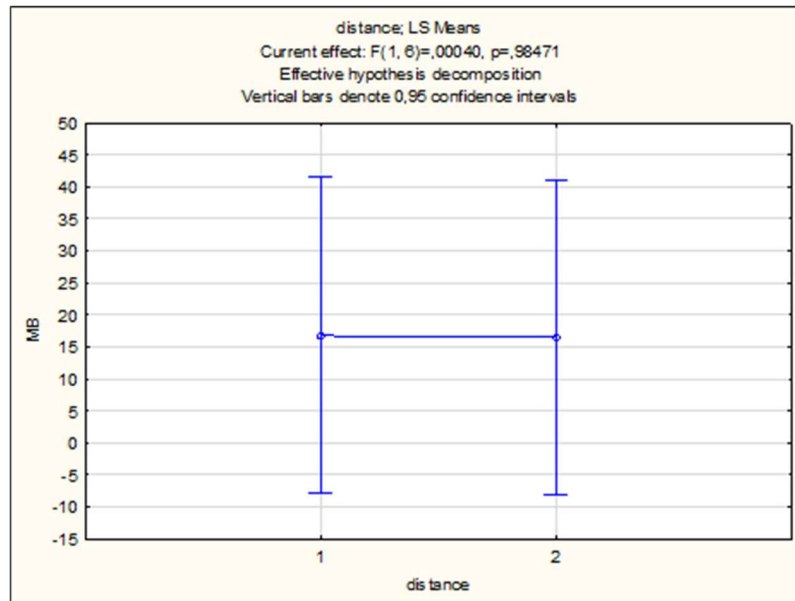
Grafické znázornění šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech (0,1 a 1 m),  $\alpha$ -pinene



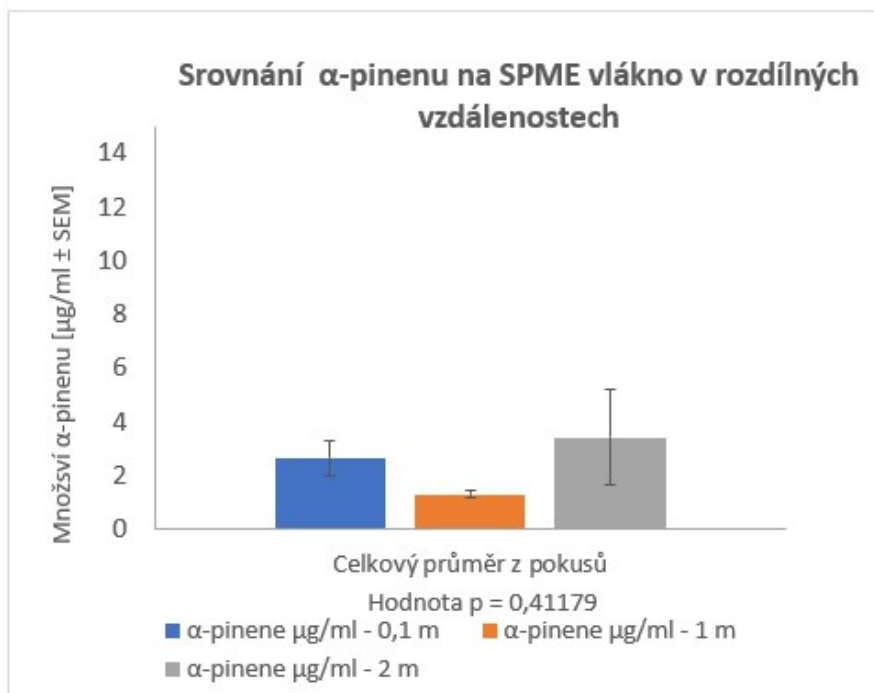
Šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech (0,1 a 1 m), MB

Cell No.	distance; LS Means (Spreadsheet70) Current effect: $F(1, 6)=,00040$ , $p=,98471$ Effective hypothesis decomposition					
	Vzdálenost (m)	Průměr	Standardní chyba	-95,00%	+95,00%	N
1	0,1	16,76250	10,08976	-7,92624	41,45124	4
2	1	16,47750	10,08976	-8,21124	41,16624	4

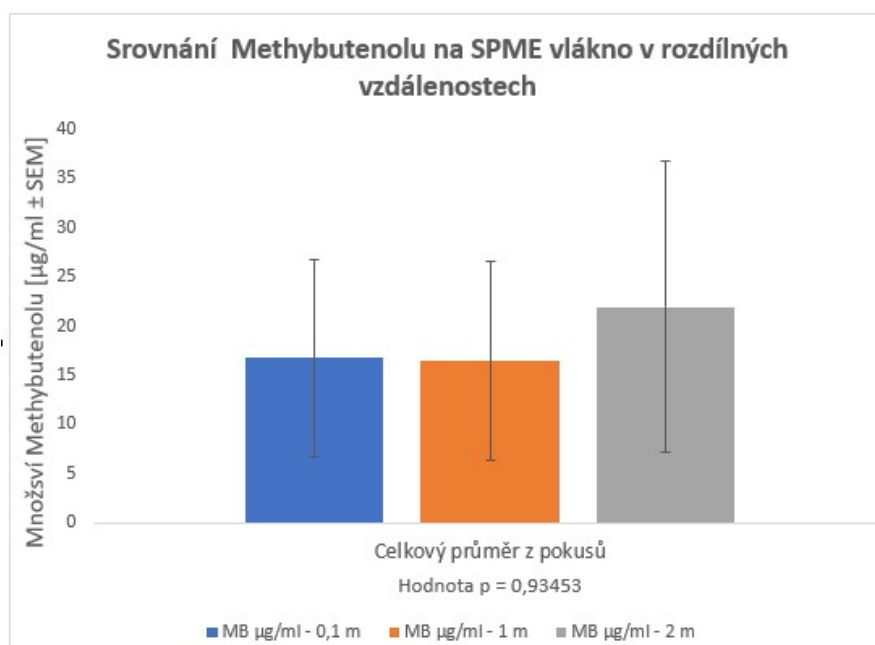
Grafické znázornění šetření za pomoci SPME vlákna v různých vzdálenostech (0,1 a 1 m),  $\alpha$ -pinene



Příloha č. 9. Grafické znázornění měření na SPME vlákno ve třech vzdálenostech (0,1; 1; 2 m)



Srovnání  $\alpha$ -pinenu při odběrech na SPME vlákno. Osa x popisuje průměr ze všech pokusů. Osa y popisuje nachytané množství  $\alpha$ -pinenu [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu ve vzdálenosti 0,1 m od výřezu, oranžová barva reprezentuje sorpci  $\alpha$ -pinenu ve vzdálenosti 1 m od výřezu a šedá barva zobrazuje sorpci ve vzdálenosti 2 m od výřezu. Nejedná se o signifikovaná měření



Srovnání MB při odběrech na SPME vlákno. Osa x popisuje průměr ze všech pokusů. Osa y popisuje nachytané množství Methybutenolu [ $\mu\text{g/ml}$ ]. Modrá barva reprezentuje sorpci Methybutenolu ve vzdálenosti 0,1 m od výřezu, oranžová barva reprezentuje sorpci Methybutenolu ve vzdálenosti 1 m od výřezu a šedá barva zobrazuje sorpci ve vzdálenosti 2 m od výřezu.