

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

SYNTETICKÉ VONNÉ LÁTKY VE VODNÍM EKOSYSTÉMU

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

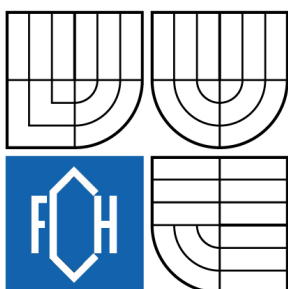
Bc. HANA GURYČOVÁ

BRNO 2009



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

SYNTETICKÉ VONNÉ LÁTKY VE VODNÍM EKOSYSTÉMU

MUSK COMPOUNDS IN WATER ECOSYSTEM

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

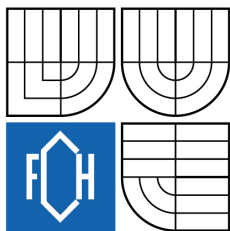
Bc. HANA GURYČOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2009



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

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce: **FCH-DIP0277/2008** Akademický rok: **2008/2009**
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
Student(ka): **Bc. Hana Guryčová**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)
Vedoucí diplomové práce: **prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.**
Konzultanti diplomové práce:

Název diplomové práce:

Syntetické vonné látky ve vodním ekosystému

Zadání diplomové práce:

- vypracování rešerše
- výběr sledovaných analytů
- optimalizace metody
- využití optimalizované metody pro reálné matrice
- zhodnocení výsledků

Termín odevzdání diplomové práce: 22.5.2009

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

Bc. Hana Guryčová
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.10.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Syntetické vonné látky, neboli musk sloučeniny jsou uměle připravené vonné organické látky, které jsou hojně využívány po celém světě jako aroma přidávané do různých produktů osobní péče, kosmetiky, mýdel, detergentů, čistících prostředků, osvěžovačů vzduchu apod. Cílem této diplomové práce bylo stanovení vybraných musk sloučenin v odpadních vodách z přítoku a odtoku čistíren odpadních vod. V průběhu práce byla optimalizována metoda, kterou byly musk sloučeniny v této matrici stanovovány. Byly porovnány dvě možnosti provedení mikroextrakce tuhou fází (SPME). Analyty byly po extrakci stanovovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC/MS). Na základě získaných výsledků bylo provedeno porovnání obou čistíren odpadních vod z hlediska zatížení vybranými musk sloučeninami.

ABSTRACT

Synthetic fragrances or musk compounds are artificialy synthesised organic substances, used as fragrant constituents in various homecare products, such as cosmetics, detergents, air fresheners etc. The aim of diploma thesis was the quantification of some selected musk compounds in the influent and effluent of the water treatment plants. The method of quantification of musk compounds in organic matrix was also optimised during the research. Two modifications of solid phase microextraction were tested and evaluated. The analytes were identified and quantified by gas chromatography - mass spectrometry (GC/MS). The results were used to evaluate the amount of musk compounds in sewage waters and the ability of various water treatment plants to eliminate this kind of pollution from the water during the treatment process.

KLÍČOVÁ SLOVA

syntetické vonné látky, plynová chromatografie s hmotnostní detekcí, vodní ekosystém

KEYWORDS

musk compounds, gas chromatography with mass spectrometry

GURYČOVÁ, H. Syntetické vonné látky ve vodním ekosystému, 2009. 89 s. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat vedoucí své diplomové práce prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za trpělivost, cenné rady a připomínky. Také bych chtěla poděkovat všem ostatním pracovníkům Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí FCH VUT v Brně, kteří mi poskytli pomoc při řešení diplomové práce. Současně bych ráda vyjádřila poděkování všem pracovnícům z VFU Brno za jejich vstřícnou pomoc při měření. Mé díky patří také rodině a přátelům za podporu během celého studia.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Vonné látky.....	9
2.1.1	Obecné informace.....	9
2.1.2	Historie syntetických vonných látek.....	9
2.1.3	Rozdělení vonných látek.....	11
2.1.4	Přírodní vonné látky.....	11
2.1.4.1	Rostlinné vonné látky.....	11
2.1.4.2	Živočišné vonné látky.....	12
2.1.5	Syntetické vonné látky.....	14
2.1.5.1	Přírodně identické vonné látky.....	14
2.1.5.2	Umělé (syntetické) vonné látky.....	14
2.2	Syntetické musk sloučeniny.....	14
2.2.1	Fyzikálně chemické vlastnosti.....	14
2.2.2	Nitromusk sloučeniny.....	15
2.2.3	Přehled nejvýznamnějších nitromusk sloučenin.....	16
2.2.3.1	Musk xylen.....	16
2.2.3.2	Musk keton.....	16
2.2.3.3	Musk mosken.....	17
2.2.3.4	Musk tibeten.....	18
2.2.4	Polycyklické musk sloučeniny.....	18
2.2.5	Přehled nejdůležitějších polycyklických musk sloučenin.....	19
2.2.5.1	Galaxolid.....	19
2.2.5.2	Tonalid.....	20
2.2.5.3	Celestolid.....	21
2.2.5.4	Phantolid.....	22
2.2.5.5	Traseolid.....	22
2.2.6	Makrocyclické musk sloučeniny.....	23
2.2.7	Přehled nejdůležitějších makrocyclických musk sloučenin.....	24
2.2.7.1	Muskon.....	24
2.2.7.2	Cyclopentadecanolid.....	24
2.2.7.3	Ethylenbrassylat.....	25
2.2.7.4	Ambrettolid.....	26
2.2.7.5	Musk R1.....	26
2.2.8	Alicyklické musk sloučeniny.....	27
2.2.9	Přehled nejdůležitějších alicyklických musk sloučenin.....	27
2.2.9.1	Rosamusk.....	27
2.2.9.2	Helvetolid.....	28
2.2.9.3	Romandolide.....	28
2.3	Produkce syntetických musk sloučenin.....	29
2.4	Syntetické musk sloučeniny a životní prostředí.....	30
2.4.1	Možnosti vstupu musk sloučenin do životního prostředí.....	31
2.4.2	Výskyt a chování musk sloučenin v jednotlivých složkách životního prostředí... 32	
2.4.2.1	Atmosféra.....	32
2.4.2.2	Pedosféra.....	32
2.4.2.3	Hydrosféra.....	32

2.4.2.4	Sedimenty a suspendované sedimenty	32
2.4.2.5	Biosféra	33
2.4.3	Rozklad a metabolizace musk sloučenin	33
2.4.3.1	Nitromusk sloučeniny – musk xylen a musk keton	33
2.4.3.2	Polycyklické musk sloučeniny – galaxolid a tonalid	34
2.4.4	Bioakumulace a toxicita musk sloučenin	36
2.4.4.1	Bioakumulace	36
2.4.4.2	Toxicita	36
2.5	Metody vhodné pro stanovení musk sloučenin ve vodním ekosystému	37
2.5.1	Odběr vzorku	37
2.5.2	Transport vzorku do laboratoře	37
2.5.3	Uchování vzorků v laboratoři	38
2.5.4	Izolace analytů z matrice – Mikroextrakce tuhou fází (SPME)	38
2.5.4.1	Manipulace s vláknem SPME	39
2.5.4.2	Princip SPME	40
2.5.4.3	Optimalizace SPME	41
2.5.4.4	Vláknem použité pro stanovení musk sloučenin v této diplomové práci	43
2.5.5	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí	43
2.5.5.1	Plynová chromatografie – GC (Gas chromatography)	43
2.5.5.2	Hmotnostní spektrometrie – MS (Mass spectrometry)	46
2.5.5.3	Spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS)	50
3	Experimentální část	51
3.1	Používané laboratorní vybavení a chemikálie	51
3.1.1	Používané přístroje, zařízení a software	51
3.1.2	Standardy	51
3.1.3	Chemikálie	51
3.2	Pracovní postupy – příprava roztoků standardů, kalibrace	52
3.2.1	Příprava zásobních a pracovních směsných roztoků standardů	52
3.2.2	Příprava jednotlivých zásobních a pracovních roztoků standardů	52
3.2.3	Příprava kalibračních roztoků standardů	52
3.2.3.1	Kalibrace pro metodu SPME – Head Space	52
3.2.3.2	Kalibrace pro metodu SPME – Direct immersing	52
3.2.3.3	Matriční kalibrace pro metodu SPME – Head Space	53
3.2.3.4	Matriční kalibrace pro metodu SPME – Direct immersing	53
3.3	Pracovní postupy – optimalizace SPME	53
3.3.1.1	Metoda Head Space	53
3.3.1.2	Metoda Direct immersing	54
3.4	Pracovní postupy – manipulace a zpracování reálných vzorků	54
3.4.1	Vzorkování	54
3.4.1.1	Místa odběru vzorků odpadní vody	54
3.4.2	Postup SPME	55
3.4.2.1	Head Space	55
3.4.2.2	Direct immersing	55
3.5	Pracovní postupy – identifikace a kvantifikace analytů	55
3.5.1	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí	55
3.5.1.1	Nastavení přístroje	55
3.6	Pracovní postupy – identifikace a kvantifikace analytů	56
3.6.1	Metoda externího přídatku – metoda absolutní kalibrace	56
3.6.2	Metoda standardního přídatku	56
4	Výsledky a diskuze	57

4.1	Optimalizace metody SPME – Direct immersing	57
4.1.1	Optimalizace teploty sorpce.....	57
4.1.2	Optimalizace doby ustavení rovnováhy	58
4.2	Identifikace analytů.....	59
4.2.1	Měření v režimu SCAN.....	59
4.2.2	Měření v režimu SIM.....	63
4.3	Kvantifikace analytů.....	63
4.3.1	Kvantifikace použitá při metodě SPME – Head Space	63
4.3.2	Kvantifikace použitá při metodě SPME – Direct immersing.....	65
4.3.3	Stanovení meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ).....	66
4.4	Výsledky měření reálných vzorků	67
4.4.1	Shrnutí naměřených dat	67
4.4.1.1	První série vzorků 8.3. – 14.3. 2009	67
4.4.1.2	Druhá série vzorků 23.3. – 27.3. 2009.....	68
4.4.1.3	Třetí série vzorků 13.4. – 17.4. 2009	69
4.4.1.4	Shrnutí detekovaných limitních koncentrací	70
4.4.2	Srovnání naměřených dat.....	70
4.4.2.1	Srovnání prováděných metod	70
4.4.2.2	Srovnání výsledků z ČOV VFU (Brno) a ČOV Modřice (Brno)	71
4.4.2.3	Srovnání naměřených koncentrací s evropskými hodnotami	72
5	Závěr	73
6	Seznam použitých zdrojů	75
7	Seznam použitých zkratk a symbolů	80
8	Seznam příloh	82
9	Přílohy	83

1 ÚVOD

Již v dávných dobách si pračlověk povšiml kouzelného světa vůní a pachů kolem sebe. Na základě zkušeností také záhy přišel na to, že to, co páchne, bývá nejen nepříjemné, ale zpravidla i zkažené a škodlivé, takže je lepší se tomu zdaleka vyhnout.

Vůni nebo zápach jakožto organoleptickou vlastnost některých látek vnímáme smyslovými čichovými buňkami.

Lidé se příjemnými vůněmi obklopovali od nepaměti a první známky výroby parfému se datují na více než 4000 let před naším letopočtem. Slovo parfém vychází ze spojení per fumum, což znamená kouřem, skrze kouř. Můžeme tedy předpokládat, že člověk již od pradávna vyrůstal a žil s vůněmi a dělil se o ně se svými bohy. Kromě nejrůznějších předmětů lidé obětovali bohům i vůně. Zdrojem vůní byly tehdy rostliny a koření. Za první parféme považovat kadidlo získávané ze stromu kadidlovníku. Klejopriskyřice kadidlovníku je známá z bible jako dar tří svatých králů Ježíšovi a byla používána již v dobách antiky. K rostlinám, jež hrály v dávných rituálech našich předků významnou úlohu, patří vedle kadidlovníku také jalovec, různé druhy cypřišů, cedr a bergamot. Z květů rostlin však starověcí parfuméri ještě neuměli extrahovat a destilovat vonné esence.

Aromatické látky byly až do objevů chemických syntéz a výroby syntetických vonných látek určeny pouze pro vysoce postavenou, urozenou a bohatou společnost. Značná oblíbenost a stále širší možnosti použití vedly k jejich postupnému nedostatku.

K dalšímu rozmachu parfumerství proto došlo po zdokonalení a rozvoji extrakce a destilace. Od počátku 18. století se díky rozvoji analytické a organické chemie začaly objevovat první synteticky připravené vonné látky. Nejdříve byly izolovány a připravovány látky přírodního původu, tzv. látky přírodně identické. Postupně se začaly syntetizovat také látky nové, které již nejsou s těmi přírodními chemicky ani strukturně podobné. Nazývají se musk sloučeniny. Byly vyvinuty syntézy, které jsou provozně a finančně velmi výhodné, což přispělo k velkému rozšíření výroby těchto látek.

Syntetické vonné látky se postupně začaly přidávat do spousty výrobků denní potřeby, jako jsou kosmetika, produkty osobní péče, čisticí prostředky, mýdla apod. Rostoucí spotřeba látek sloužících k parfemaci a s tím spojený vznik odpadů z použití těchto produktů daly podnět k zamyšlení, jak se tyto látky chovají v životním prostředí. Bylo zjištěno, že tyto látky se velmi špatně ve složkách životního prostředí rozkládají a mají schopnost bioakumulace. Byly detekovány téměř ve všech složkách životního prostředí.

Předkládaná diplomová práce pojednává o studiu nejvýznamnějších musk sloučenin. Jedná se o dva zástupce ze skupiny nitromusk sloučenin (musk xylen a musk keton) a jednoho zástupce polycyklických musk sloučenin (tonalid). Do teoretické části bude zpracována literární rešerše zaměřená na vlastnosti musk sloučenin a jejich osud v životním prostředí. V praktické části pak bude řešena možnost jejich identifikace a bude optimalizována metoda stanovení musk sloučenin z odpadní vody. Vybrané analyty budou sledovány ve vzorcích odpadních vod odebíraných z vybraných čistíren odpadních vod. Budou analyzovány vzorky odpadních vod z přítoku a odtoku z čistírny. Na základě získaných výsledků bude provedeno posouzení schopnosti dané čistírny eliminovat tyto látky z odpadní vody při procesu čištění.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vonné látky

2.1.1 Obecné informace

Syntetické vonné látky jsou poměrně silně vonící organické látky s charakteristickým, obvykle příjemným aroma [1]. Syntetické pižma neboli musk sloučeniny jsou používány jako náhrada přírodních vonných látek. Zahrnují široké spektrum chemicky odlišných látek [2]. Jsou obsaženy ve velkém množství produktů denní potřeby člověka (mýdla, šampóny, kosmetika a jiné produkty osobní péče), v čistících prostředcích používaných v domácnostech i v průmyslu, v osvěžovačích vzduchu, průmyslových plastifikátorech atd. [3, 4, 5, 6].

musk sloučeniny jsou v dnešní době široce rozšířeny po celém světě [7]. Jsou to látky velmi snadno dostupné [5]. Jejich výroba je jednoduchá a nenákladná [8, 9]. Proto jsou, na rozdíl od přírodních vonných látek, snadno dostupné pro výrobce a celková cena produktu jejich přidávkem nestoupá.

musk sloučeniny mají kromě svých pozitiv popsaných výše také řadu negativních vlastností. V posledních desítkách let se začal sledovat osud těchto látek a produktů jejich degradace v životním prostředí. Bylo zjištěno, že řada z nich je velmi perzistentní v životním prostředí [5, 6, 9, 10, 11, 12]. Masové využívání syntetických vonných látek a právě jejich schopnost perzistence způsobily, že se tyto látky dnes nacházejí prakticky ve všech složkách životního prostředí [9, 13, 14]. Různé druhy musk sloučenin byly identifikovány v atmosféře [8, 15, 16] v mořských a sladkých vodách [3, 6, 11, 12, 17, 18], odpadních vodách a kalech z čistíren odpadních vod [5, 6, 7, 8, 12, 13, 15, 19, 20, 21, 22, 23], v sedimentech [2, 5, 6, 8] a půdách [5]. Většina z nich byla nalezena také v biotě, např. ve tkáních akvatických živočichů, zejména ryb a měkkýšů [2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 19, 23]. Kromě toho byly zjištěny také v krevním séru, mateřském mléce a v tukové tkáni člověka [2, 3, 5, 9, 10, 14, 16, 20, 23].

Některé musk sloučeniny jsou perzistentní především proto, že odolávají hydrolýze, fotodegradaci a biodegradaci [4, 6, 7, 17, 24]. Jsou to lipofilní látky a mají vysokou schopnost bioakumulace a biokoncentrace [2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 23].

2.1.2 Historie syntetických vonných látek

Odedávna se lidé zabývali vůněmi a pachy; vždy se snažili obklopovat pouze příjemnými vůněmi a nepříjemným pachům se vyhnout. Dokud nebyly známy žádné postupy, jak vůni z voňavých surovin získat, používali přímo tyto voňavé suroviny.

Po vonících látkách vždy byla a stále je velká poptávka. V dřívějších dobách sloužily pro přípravu vonných látek pouze přírodní zdroje. Výrobci vonných esencí se v těchto dobách omezovali pouze na izolaci vonných látek z přírodního materiálu, který mohl být jak rostlinného tak i živočišného původu [25].

Staří Egypťané vyráběli voňavky a masti tak, že namáčeli vonné rostliny do oleje a tekutinu potom ždímalí přes plátno, případně namáčeli jejich okvětní plátky do tuku, který absorboval a udržel jejich vůni [26]. Velkou vášeň pro vůně měli Římané, kteří z arabských zemí dováželi obrovská množství vzácné myrhy a kadidla. Později začali dovážet také nové magické ingredience z Indie [26, 27].

Až do 16. století byla pak výroba parfémů téměř výhradním uměním Arabů, kteří objevili a vyvinuli techniku destilace vůní z rostlin [26].

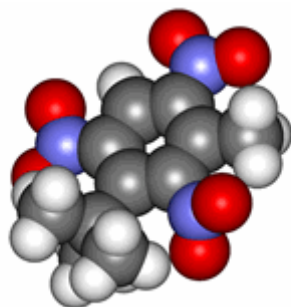
V 16. století se dostalo voňavkářství do Evropy, především do Francie, když Kateřina Medicejská zavedla v Paříži parfémy jako módní novinku. Město Grasse se stalo hlavním centrem parfémů na světě. V této době měly parfémy za úkol zakrýt zejména následky nedostatečné hygieny; lidé se oblékali do složitých garderob, nosili obrovské paruky, ale čistotě těla nevěnovali téměř žádnou pozornost. Později se lidé začali praktičtěji oblékat a zvýšila se i osobní hygiena. Dnes se parfémy používají výhradně pro zvýraznění příjemných pocitů z čistého zevnějšku [26, 27].

Suroviny na výrobu parfémů se po celá staletí dovážely z exotických zemí za vysoké ceny. Výbojně a na svou dobu technicky vyspělé evropské státy okupovaly a kolonizovaly mnohé tropické oblasti a každý z nich se snažil zavést pěstování atraktivních rostlin také ve své vlasti. Tak přibývalo ve světě plantáží, na nichž se žádané aromatické rostliny pěstovaly. Nicméně poptávka byla stále velká a aromatické látky byly většinou k dispozici pouze pro vysoké vrstvy společnosti. [25].

Po staletí se v parfumerii používalo prakticky 150–200 přírodních vonných látek. Značná změna nastala s vývojem syntetických produktů, s jejichž pomocí se daly vyrábět vůně ve velkém. V průběhu posledních 200 let byl sortiment vonných látek obohacen o tyto, do té doby neznámé látky. Jsou to syntetické sloučeniny, kterých dnes známe několik tisíc.

V roce 1875 byl Perkinem vyroben kumarin, jeden z prvních syntetických musk sloučenin. O pár let později byl syntetizován vanilín, jehož objev byl v historii vonných látek velmi významný. O objev syntézy vanilinu se zasloužili němečtí chemici Haarman, Tiemann a Reimer [28].

V roce 1888 si Albert Baur při výrobě nových druhů výbušnin povšiml, že produkt jeho Friedel-Craftsovy reakce trinitrotoluenu s terc-butyl halogenidem příjemně pižmově voní [7, 11, 28, 29]. Od té doby je tato sloučenina známá jako Baurovo pižmo (Baur musk) nebo Tonquinol. Je to první syntetická mošusově vonící látka. V roce 1894 vyvinul další, ještě intenzivněji mošusově vonící látku mošus keton (musk ketone) [29].



Obrázek 1: Prostorová struktura molekuly Baurova pižma [30],
systematický název: 2-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-1,3,5-trinitro-benzen
Tmavě šedá barva znázorňuje uhlík, světle šedá vodík, modrá dusík a červená kyslík.

V roce 1893 Krüger a Tiemann syntetizovali jonony. Název jonon vznikl z řeckého ionone, což znamená fialka. Jedná se o ketony terpenické povahy vyznačující se fialkovou vůní. Dalším zajímavým objevem byl methylnonylacetaldehyd, který byl v roce 1921 použit ve slavném parfému *Chanel No 5*.

V roce 1957 byl připraven galaxolid, který patří do skupiny izochromanových mošusů. Dalšími syntetickými látkami s charakteristickou vůní mošusu a ambry byly deriváty indanu (celestolid) a deriváty tetrahydronaftalenu (tonalid).

Začátkem 80. let 20. století byly syntetizovány dvě látky růžové silice: damaskon a damascenon, které mají jemnou ovocnou vůni.

Do dnešní doby bylo připraveno okolo 10 000 vonných látek. Běžně je v praxi využíváno asi 2000 musk sloučenin a 300 z nich je používáno ve velkém množství. Každá nová vonná látka je podrobena náročným toxikologickým testům. Důležité je ekologické hledisko technologie jejich výroby, stejně jako sledování jejich biologické odbouratelnosti [28].

2.1.3 Rozdělení vonných látek

Vonné látky lze klasifikovat různými způsoby. Pro potřeby vědy rozdělujeme vonné látky na přírodní a syntetické. Přírodní dále dělíme na rostlinné a živočišné. Syntetické vonné látky dělíme na přírodně identické a na umělé.

Jiným možným dělením, které využívají především parfuméri, je rozdělování podle charakteristické vůně a následné řazení do tříd.

2.1.4 Přírodní vonné látky

Člověk se od pradávna věnuje získávání vůní z přírody. Rostliny nabízejí širokou paletu rozličných vůní, které se lidé stále snaží získávat a hlavně uchovávat. Živočiškové jsou také významným zdrojem vůní používaných člověkem.

2.1.4.1 Rostlinné vonné látky

Aromatické látky v rostlinách se nazývají silice. Rostlinné silice se označují rovněž jako éterické oleje, esenciální oleje nebo aromatické oleje. Využívají se ve velké míře především v kosmetickém, farmaceutickém, potravinářském průmyslu a v dalších oborech.

Aromatické látky působí na čichové nebo chuťové receptory člověka a vyvolávají dojem vůně nebo chuti. Rostlinné silice jsou látky těkavé, nestálé, bezbarvé nebo barevné kapaliny rozdílné viskozity. Nejsou mísitelné s vodou. Dobře se rozpouštějí v rostlinných olejích, v ethanolu a dalších organických rozpouštědlech [31].

V současnosti je popsáno přibližně 100 000 rostlinných druhů, z nichž jen asi 1 700 obsahuje silice. Pro praktické využití má význam zhruba 200 z nich [32].

Silice obsahují vždy uhlovodíky a kyslíkaté látky. Jejich skelet je složen z isoprenových molekul řazených za sebou podle isoprenového pravidla; patří tedy mezi terpeny.

Převažují dva typy:

1) Monoterpeny - s deseti uhlíkovými atomy v molekule. Jsou to alifatické, mono- a dicyklické struktury vzniklé ze dvou isoprenoidních jednotek (2-methyl-1,3-butadien). Jejich rozmanitost vyplývá z různých způsobů cyklizace a je zvyšována zaváděním různých substituentů. Příkladem monoterpenů jsou např. uhlovodíky (limonen), alkoholy (menthol) a oxosloučeniny (kafr).

2) Seskviterpeny - s patnácti uhlíkovými atomy v molekule. Jsou alifatické mono-, di- a tricyklické struktury tvořené třemi isoprenoidními jednotkami. V současnosti je známo asi 100 strukturálních typů těchto látek [33], zástupcem této skupiny je např. chamazulen (heřmánková silice) nebo nerolidol (silice z pomerančového květu).

Vedle terpenů jsou v silicích přítomny také alifatické cyklické a aromatické sloučeniny, které ve své molekule obsahují nejčastěji ještě atom kyslíku, dusíku nebo síry [31].

Jsou produktem sekundárního metabolismu rostlin, během kterého dochází k degradaci látek metabolismu primárního, tedy cukrů, tuků a bílkovin [25, 31, 32]. Látky obsažené v silicích vznikají dvěma biogenetickými pochody. Hlavním je tzv. mevalonátová cesta, při které se tvoří látky terpenické. Dalším pochodem je tzv. šikimátová cesta, kdy jsou tvořeny např. kumariny, furokumariny a fenolické látky [31, 32].

Hlavními způsoby izolace vonných látek z rostlin jsou:

- Extrakce nepolárními rozpouštědly nebo tukem
- Destilace s vodní parou
- Lisování.

Extrakce nepolárními rozpouštědly nebo tukem

Pro extrakci vonných látek z květů rostlin se používá extrakce nepolárními rozpouštědly, kterými jsou např. petrolether, dietyther, hexan a oxid uhličitý.

V uzavřené nádobě jsou na roštu nasypány květy, protéká přes ně rozpouštědlo, které se postupně sytí vonnými složkami květů. Vzniká miscela. Poté se rozpouštědlo oddestiluje a vznikne voskovitá, polotuhá hmota, tzv. konkrét. Konkrét obsahuje vonné látky a vosky, které však jsou při extrakci nežádoucí. Konkrét se rozmíchá v ethanolu, směs se vymrazí a pak přefiltruje. Filtrát se poté zpracuje na požadovanou silici tzv. silici absolutní.

Vysoce kvalitní silice se získávají extrakcí pomocí oxidu uhličitého; CO₂ je udržován pod tlakem v kapalném stavu v uzavřeném systému s rostlinnou drogou, ze které se uvolňuje silice.

Dalším způsobem získávání je extrakce do živočišného tuku – anfleráž (franc. enfleurage). Čerstvě natrhané květy se nakladou na tenkou vrstvu směsi tuků umístěnou na skle nebo na tkanině. Vrstva tuků zachycuje silici, která se z květů vypařuje. Čerstvé květy se kladou na tuk do té doby, než je tuk silicí zcela nasycen. Tuk nasycený silicí se nazývá pomáda. Ta se extrahuje ethanolem. Výluh se vymrazí a filtruje. Výsledný produkt se nazývá laváž. Z laváže se oddestiluje ethanol a zbytek je silice absolutní. Tato metoda je poměrně náročná a nákladná, proto se používá pouze při výrobě nejdražších silic, jakými jsou například silice jasmínová, silice z pomerančových květů apod. [31, 32].

Destilace s vodní parou

Vodní pára za vysokého tlaku prochází rostlinným materiálem a aromatické komponenty jsou z něj extrahovány. Vonné látky jsou parou unášeny do horní části kolony a do chladiče, kde spolu s vodou kondenzují a esenciální oleje jsou poté odděleny z vodní hladiny. Destilace může probíhat při 100 °C, regulací tlaku také při teplotách vyšších i nižších. Touto metodou se zpracovává téměř 80 % rostlinného materiálu. Destilací vodní parou je možné vyrábět silice z plodů, z natí rostlin nebo jen z listů apod. Silice se také destilují z ostatních částí rostlin – kořeny, dřevo, oddenky i květy [31, 32].

Lisování

Tato extrakční metoda je používána zejména pro získání esenciálních olejů z čerstvé ovocné kůry, jež je za studena stlačována. Kůra se nejprve oddělí od plodu a poté se na dřevěných lisech lisuje za studena pod proudem vody. Vzniká emulze, z níž se odstředěním získává silice. Takto se vyrábí především silice pomerančová, citrónová a grapefruitová [31, 32].

2.1.4.2 Živočišné vonné látky

V přírodě jsou někteří živočichové, kteří produkují zajímavé a v parfumerii významné látky. Tyto látky se nepoužívají v přírodním stavu, ale před použitím se složitými postupy upravují do forem tinktur nebo resinoidů. Vonné látky živočišného původu se dnes už v parfumerství téměř nepoužívají a jsou nahrazovány syntetickými látkami [10]. V parfémtech byly používány především jako fixátory, protože mají schopnost prodloužit stabilitu a vůni celé vonné kompozice.

Nejvýznamnějšími látkami a živočichy, kteří je produkují jsou: Ambra - vorvaň, Mošus - kabar pižmový, Cibet - cibetka a Kastoreum - bobr. Rovněž je známo, že látku podobnou

mošusu produkují další živočichové, jako např. ondatra, aligátor, zebu nebo brouk skarab [25].

Ambra

Vytváří se v trávicím traktu vorvaně (*Physeter catodon*, *Physeter macrocephalus*) jako patologický produkt. Je to voskovitá hmota s nižší hustotou než voda. Získává se převážně z ulovených vorvaňů, nebo bývá vyvržena na břehy oceánu. Surová nemá příjemnou vůni, extrakcí 90% ethanolem se z ní vyrábí ambrová tinktura která se musí nechat zrát několik měsíců. Po zrání vzniká látka příjemné sametové vůně [25, 32].

Mošus

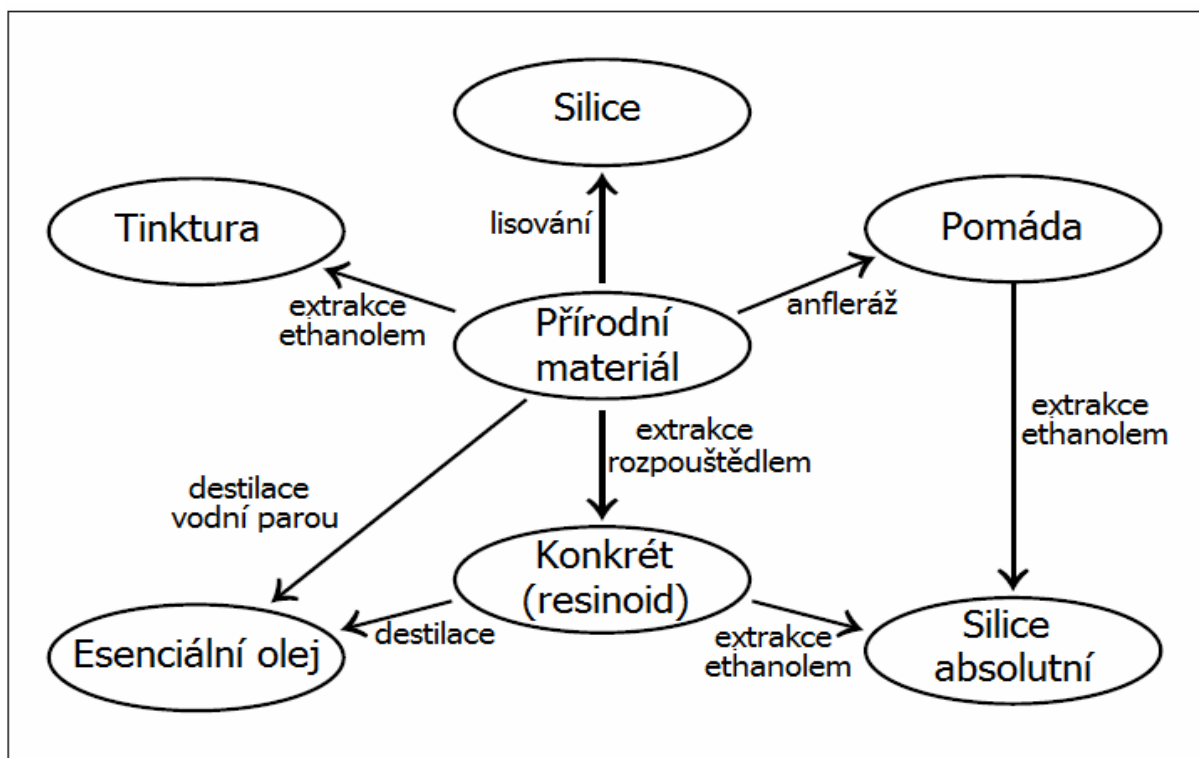
Je páchnoucí masťovitá hmota, vytvářející se v pachových váčcích kabara pižmového (*Moschus moschiferus*). Z mošusu se vyrábí tinktura podobně jako z ambry. Nechává se přibližně půl roku louhovat a pak velmi dlouho zrát [25, 32].

Cibet

Cibet je páchnoucí hnědá mazlavá hmota, která se tvoří a ukládá ve váčcích poblíž řitního otvoru cibetek (*Viverra civetta*, *Viverra megaspilla*). Sekret produkují obě pohlaví a cibet lze získávat, aniž by bylo nutné zvíře usmrtit. Surový cibet se dále zpracovává na resinoid nebo lihovou tinkturu [25, 32].

Kastoreum

Tuto látku produkuje bobr evropský (*Castor fiber*). Získává se z bobřích strůjů; to jsou váčky, které se vyskytují u bobrů obojího pohlaví u řitního otvoru. Kastoreum je tmavohnědý sekret připomínající vůni surové kůže. Ze surového produktu se opět vyrábí tinktura nebo resinoid [25, 32].



Obrázek 2. Schématické znázornění izolačních technik vonných látek z přírodních materiálů [29] (upraveno).

2.1.5 Syntetické vonné látky

Neustále se zvyšující poptávka po vonných látkách nakonec vyústila ve výrobu syntetických vonných látek. Tyto látky nejsou izolovány z přírodních surovin, ale jsou syntetizovány různými chemickými postupy. Vyráběny jsou buď látky tzv. "přírodně identické", nebo zcela nové "umělé" vonné látky.

2.1.5.1 Přírodně identické vonné látky

Přírodně identickou aromatickou látkou se rozumí látka získaná chemickými postupy, která je chemicky identická s látkou přirozeně přítomnou v matricích rostlinného nebo živočišného původu.

Jestliže je chemická struktura vonné substance známá, pak je možné provést syntézu molekuly vonné látky a zavést průmyslovou výrobu. Pokud je chemická struktura přírodní aromatické látky přesně okopírována a zachována i při výrobě, získá se "přírodně identické" aroma. "Přírodní" a "přírodně identické" aroma nelze vzájemně rozlišit z hlediska chuti a vůně, nebo chemické struktury. Významným příkladem přírodně identické příchutě je vanilin. Není "umělý", neboť se vyskytuje v přírodě, avšak zároveň byl vyvinut postup výroby jeho přesné kopie. Tyto látky se využívají v potravinářství a v parfumérství.

2.1.5.2 Umělé (syntetické) vonné látky

Umělá (syntetická) vonná látka je taková látka, která je vyráběna chemickými postupy a v přírodě se vůbec nevyskytuje. Jedná se o zcela novou substanci, která je výsledkem výzkumné činnosti člověka. Syntetické vonné látky tvoří velmi různorodou skupinu látek. Specifickou skupinou syntetických vonných látek jsou tzv. musk sloučeniny, což jsou syntetické náhražky přírodního pižma [24, 34]. Vzhledem k fyzikálně chemickým vlastnostem musk sloučenin lze předpokládat, že se mohou stát prioritními polutanty sledovanými ve složkách životního prostředí. Proto se výzkum v posledních letech zaměřuje na sledování osudu těchto látek v životním prostředí, především z hlediska jejich bioakumulace a biokoncentrace.

2.2 Syntetické musk sloučeniny

Skupina uměle připravených vonných látek s pižmovým aroma jsou dnes používány na celém světě a tvoří důležitou skupinu vonných látek. Jejich vynikající vlastnosti, kterými jsou zejména chemická stabilita a tím neměnnost vonného tónu, stejně jako nízká cena a relativně nenáročná výroba, přispěly k jejich velkému rozšíření. Neustále se zvyšující produkce a používání bez zvažování ekologických rizik umožnily závažné zjištění, že tyto látky postupně pronikly do všech složek životního prostředí.

2.2.1 Fyzikálně chemické vlastnosti

musk sloučeniny se díky svým fyzikálně chemickým vlastnostem řadí mezi perzistentní organické polutanty [5, 6, 9, 10, 11, 12].

Jsou to semivolatilní organické látky a jejich těkavost je závislá na chemické struktuře. Protože mají lipofilní charakter, mají vysokou schopnost bioakumulace. Lipofilita jim umožňuje snadno se adsorbovat na organickou hmotu, zejména tuky a procházet buněčnými membránami [2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 23].

Tyto látky jsou dobře rozpustné v organických rozpouštědlech (a tucích), ve vodě se téměř nerozpouštějí. Některé musk sloučeniny jsou perzistentní zejména proto, že odolávají

hydrolyze, fotodegradaci a biodegradaci [4, 6, 7, 17, 24]. Přesnější fyzikálně chemické vlastnosti jsou uvedeny dále pro konkrétní skupiny musk sloučenin a jejich zástupce.

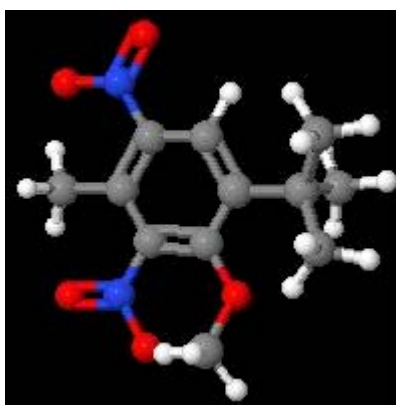
Syntetické musk sloučeniny dělíme na základě chemické struktury na:

1. Nitromusk sloučeniny (nitro mošusy)
2. Polycyklické musk sloučeniny (polycyklické mošusy)
3. Makrocyclické musk sloučeniny (makrocyclické mošusy)
4. Alicyklické musk sloučeniny

2.2.2 Nitromusk sloučeniny

Vonné látky patřící do této skupiny byly vůbec prvními používanými syntetickými vonnými látkami, protože první nitromusk sloučeninou bylo Baurovo pižmo, (viz kapitola 2.1.2). Své nejširší uplatnění našly v počátcích používání syntetických vonných látek.

Do 80. let 20. století byly nitromusk sloučeniny vyráběny ve velkých množstvích, protože byly používány jako běžné složky kosmetických přípravků a detergentů. Začátkem 80. let se začaly objevovat první studie, které poukazyvaly na negativní vlastnosti a dopad nitromusk sloučenin na životní prostředí. V roce 1980 začala klesat produkce a užívání nitromusk sloučenin v Evropě po zjištění, že jeden ze zástupců této skupiny látek (musk ambrette) má prokazatelné fotoalergické účinky [04].



Obrázek 3: Prostorová struktura molekuly musk ambrette [36],
systematický název: 1-tert-butyl-2-methoxy-4-methyl-3,5-dinitrobenzene
Tmavě šedá barva znázorňuje uhlík, světle šedá vodík, modrá dusík a červená kyslík.

V roce 1981 byly v Japonsku detekovány vysoké koncentrace nitromusk sloučenin v povrchových vodách a v rybách [11, 18]. Působení této skupiny látek na ekosystém bylo hodnoceno testy toxicity a ekotoxicity. Po zjištění, že tyto látky mají vysoký bioakumulační potenciál ve vodních ekosystémech, bylo v Japonsku zakázáno přidávání musk xylenu do čistících prostředků pro domácnosti [35]. Později byla prokázána přítomnost nitromusk sloučenin jak v mořských tak i ve sladkých vodách, v rybách a u jiných vodních živočichů. Nitromusk sloučeniny byly také detekovány v lidském těle, a to v tukových tkáních a mateřském mléce [10, 11, 35].

Některé nitromusk sloučeniny byly postupně zakázány; v roce 1995 byl na celém území evropské unie zakázán musk ambrette a v roce 1998 se na seznam zakázaných nitromusk sloučenin dostávají také musk tibetene a musk moskene.

Zpřísnily se také limity pro používání musk xylenu a musk ketonu, které jsou v dnešní době stále nejrozšířenějšími zástupci ze skupiny nitrovaných syntetických vonných látek. Musk xylen a musk keton jsou dnes zařazeny na seznam potenciálně nebezpečných chemikálií,

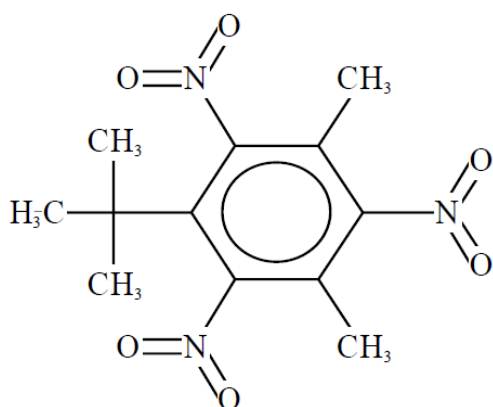
protože představují velké ekotoxikologické riziko. Samy jsou snadno biodegradovatelné, avšak jejich degradací vznikají amino-metabolity, které jsou v životním prostředí mnohem nebezpečnější.

Nitromusk sloučeniny jsou nitroderiváty benzenu s dvěma nebo třemi substituovanými nitroskupinami na benzenovém jádře.

2.2.3 Přehled nejvýznamnějších nitromusk sloučenin

2.2.3.1 Musk xylen

Zkratka	MX
Obchodní názvy	Musk xylen, Musk xylol, Mošus xylen
Systematický název (IUPAC)	2,4,6-trinitro-1,3-dimethyl-5-terc-butylbenzen
Sumární vzorec	$C_{12}H_{15}N_3O_6$
Vzhled	jemné světle žluté krystaly
CAS index	81-15-2



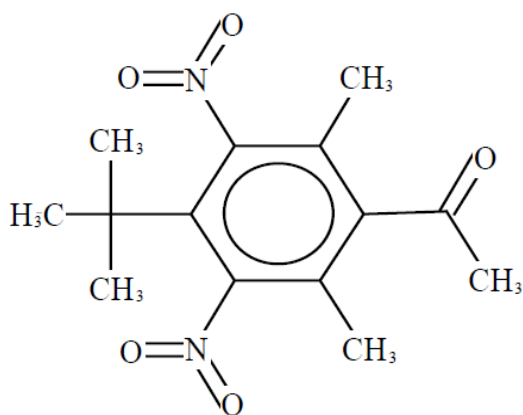
Obrázek 3. Struktura musk xyleny [37]

Tabulka 1. Fyzikálně chemické vlastnosti musk xyleny [6, 36, 37]

Molární hmotnost $M [g \cdot mol^{-1}]$	Hustota $\rho [g \cdot cm^{-3}]$	Teplota tání $t [^{\circ}C]$	Teplota varu $t [^{\circ}C]$	Log K_{ow}	Tlak nasycených par $p [Pa]$	Rozpustnost ve vodě
297,264	1,325 $\pm 0,06$	114,0	-	4,8	0,00003	nerozpustný

2.2.3.2 Musk keton

Zkratka	MK
Obchodní názvy	Mošus keton, Musk ketone, Ketone Moschus
Systematický název (IUPAC)	4'-terc-butyl-2',6'-dimethyl-3',5'-dinitroacetofenon
Sumární vzorec	$C_{14}H_{18}N_2O_5$
Vzhled	jemné žluté krystalky
CAS index	81-14-1



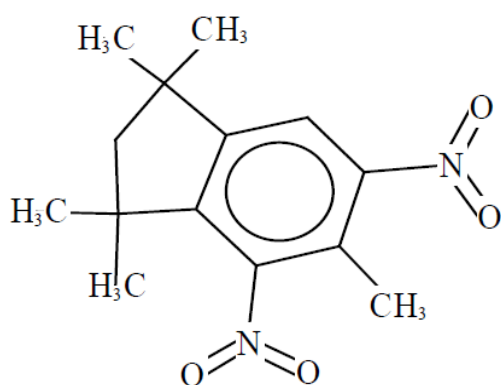
Obrázek 4. Struktura musk ketonu [37]

Tabulka 2. Fyzikálně chemické vlastnosti musk ketonu [6, 36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
294,30312	1,206 ± 0,06	135,00 - 139,00	395,00	4,3	0,00004	nerozpustný

2.2.3.3 Musk mosken

Zkratka	MM
Obchodní názvy	Moskene, Moskene moschus, Musk moskene
Systematický název (IUPAC)	1,1,3,3,5-pentamethyl-4,6-dinitro-2H-indene
Sumární vzorec	C ¹⁴ H ¹⁸ N ² O ⁴
Vzhled	žlutý prášek
CAS index	116-66-5



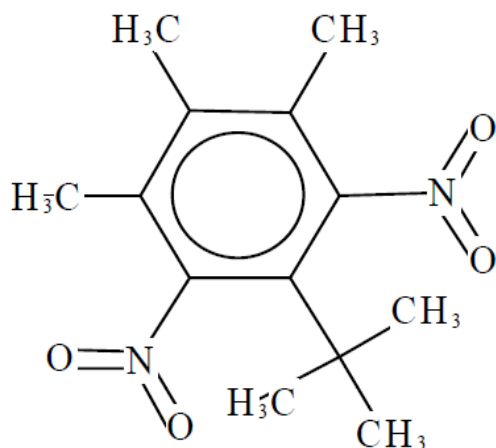
Obrázek 5. Struktura musk moskenu [37]

Tabulka 3. Fyzikálně chemické vlastnosti musk moskenu [6, 36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
280,3196	1,182 ± 0,06	131,00	350,00 - 353,00	5,8	-	nerozpustný

2.2.3.4 Musk tibeten

Zkratka	MT
Obchodní názvy	Musk tibetene, Musk tibetine
Systematický název (IUPAC)	1,1,3,3,5-pentamethyl-4,6-dinitro-2H-indene
Sumární vzorec	C ¹³ H ¹⁸ N ² O ⁴
Vzhled	jemné žluté krystalky
CAS index	145-39-1



Obrázek 6. Struktura musk tibetenu [37]

Tabulka 4. Fyzikálně chemické vlastnosti musk tibetenu [6, 36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
266,29302	1,164 ± 0,06	135,00	-	4,30	-	nerozpustný

2.2.4 Polycyklické musk sloučeniny

Polycyklické musk sloučeniny jsou druhá velmi významná skupina syntetických vonných látek. K jejich velkému rozšíření došlo až po omezení produkce nitromusk sloučenin. První syntetickou polycyklickou musk sloučeninou byl kumarín, který byl připraven již v roce 1875. Syntéza této látky byla pro tuto dobu velmi náročná, a proto nedošlo k její průmyslové

výrobě. Teprve s postupujícím rozvojem chemického průmyslu došlo k rozšíření polycyklických musk sloučenin. K rozvoji přispěla také mezera na trhu s vonnými látkami, kterou způsobil zákaz nebo omezení používání nitromusk sloučenin. Průmyslová výroba těchto látek je relativně jednoduchá a ekonomicky nepřilíš nákladná. Polycyklické musk sloučeniny mají neměnné vonné vlastnosti, které jsou způsobeny jejich fotostabilitou a také stabilitou v zásaditém prostředí [2]. To vše mělo za následek to, že jejich produkce brzy vysoce převyšovala produkci nitromusk sloučenin [5, 9, 14, 37].

Nejdůležitějšími polycyklickými musk sloučeninami jsou Galaxolid (Abbalide, Pearlide), jehož zkratka systematického názvu je HHCB (1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyklopenta-gama-2-benzopyran) a Tonalid (Fixolide), jehož zkratka je AHTN (1-(3,5,5,6,8,8-hexamethyl-6,7-dihydronaphthalen-2-yl)ethanone) [2, 5, 8]. Kolem roku 1995 představovala výroba Galaxolidu a Tonalidu 95 % produkce syntetických musk sloučenin vůbec [12, 13, 14, 15, 37]. Staly se běžnými složkami nejen produktů denní péče, kam lze zařadit parfémy, mýdla, kosmetiku a šampóny, ale také složkami průmyslových detergentů, čističů, osvěžovačů vzduchu a mnoha dalších výrobků [20]. Van de Plassche a Balk v roce 1995 zjistili, že největší spotřeba polycyklických musk sloučenin HHCB a AHTN byla v Evropě a dosahovala až 15,5 mg/den na člověka [12].

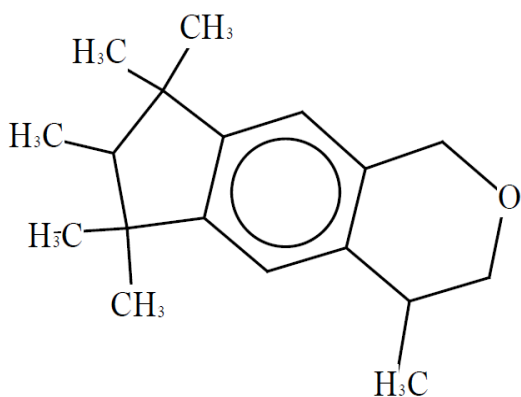
Jejich velké rozšíření a zvyšující se produkce způsobily, že začaly být sledovány a následně hodnoceny jejich environmentální vlastnosti a chování v životním prostředí. Jako první na přítomnost polycyklických musk sloučenin ve složkách ŽP upozornil v roce 1995 Eshke, který identifikoval tyto látky ve vodě a v rybách odlovených v německé řece Ruhr a dále ve vzorcích kalu z městské čistírny odpadních vod [12]. Později bylo potvrzeno, že polycyklické musk sloučeniny jsou rovněž velmi lipofilní, perzistentní v ŽP a mají vysokou schopnost bioakumulace v rybách a jiných organismech [8, 13, 14, 18, 19, 20]. Polycyklické musk sloučeniny byly, stejně jako nitromusk sloučeniny, detekovány v lidské tukové tkáni, mateřském mléku a krevním séru [8, 12, 14, 19, 20]. Jeden ze skupiny polycyklických musk sloučenin, Versalide, se dokonce od roku 1980 nevyrábí, protože u něj byl zjištěn silný neurotoxický efekt [15]. Výroba ostatních polycyklických musk sloučenin na základě publikovaných údajů o jejich negativním dopadu na organismy také postupně klesala. V současnosti stále nejsou známy kompletní informace o degradaci těchto látek, zejména o osudu degradačních produktů polycyklických musk sloučenin v ŽP.

Struktura polycyklických musk sloučenin je odvozována od derivátů indanu a tetralinu. Tyto molekuly mají hodně substituentů, hlavně methylové skupiny [12]. Ve své molekule však neobsahují žádné nitroskupiny. Nemají chemickou ani strukturní podobnost s přírodními vonnými látkami [12]. Polycyklické musk sloučeniny mají mírně vyšší rozdělovací koeficient oktanol-voda (K_{ow}), než nitromusk sloučeniny. Proto jsou také lépe rozpustné ve vodě [37].

2.2.5 Přehled nejdůležitějších polycyklických musk sloučenin

2.2.5.1 Galaxolid

Zkratka	HHCB
Obchodní názvy	Abbalide, Galaxolide, Musk 50, Pearlide
Systematický název (IUPAC)	1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyklopenta-gama-2-benzopyran
Sumární vzorec	$C_{18}H_{26}O$
Vzhled	bezbarvá až světle žlutá silně viskózní kapalina
CAS index	1222-05-5



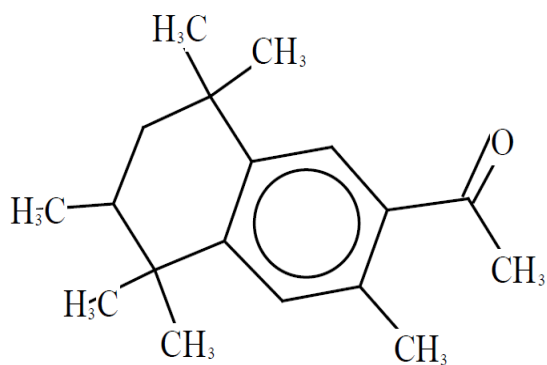
Obrázek 7. Struktura galaxolidu [37]

Tabulka 5. Fyzikálně chemické vlastnosti galaxolidu [6, 36, 37]

Molární hmotnost M [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]	Hustota ρ [$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$]	Teplota tání t [$^{\circ}\text{C}$]	Teplota varu t [$^{\circ}\text{C}$]	Log K_{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
258,39844	0,945 \pm 0,06	-	304,00	5,9	0,0608	nerozpustný

2.2.5.2 Tonalid

Zkratka	AHTN
Obchodní názvy	Musk tetralin, Tonalide, Fixolide, Tetralide, Astralide
Systematický název (IUPAC)	1-(3,5,5,6,8,8-hexamethyl-6,7-dihydronaphthalen-2-yl)ethanone
Sumární vzorec	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}$
Vzhled	bílá krystalická látka
CAS index	1506-02-1



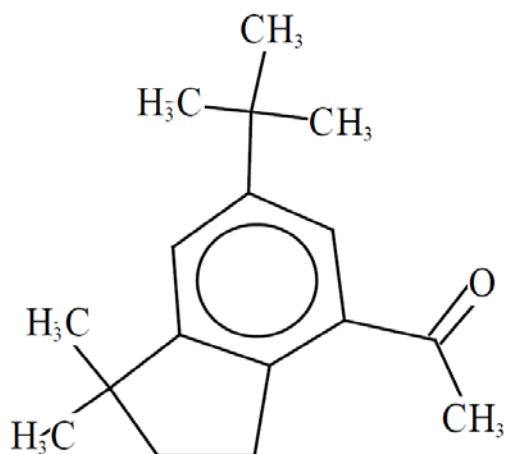
Obrázek 8. Struktura tonalidu [37]

Tabulka 6. Fyzikálně chemické vlastnosti tonalidu [6, 36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
258,39844	0,19 ± 0,6	53,0 - 54,0	393,00	5,7	0,073	nerozpustný

2.2.5.3 Celestolid

Zkratka	ADBI
Obchodní názvy	Musk dimethyl indane, Celestolide, Crysolide, Musk dti
Systematický název (IUPAC)	1-(6-tert-butyl-1,1-dimethyl-2,3-dihydroinden-4-yl)ethanone
Sumární vzorec	C ₁₇ H ₂₄ O
Vzhled	bílé krystaly
CAS index	13171-00-1



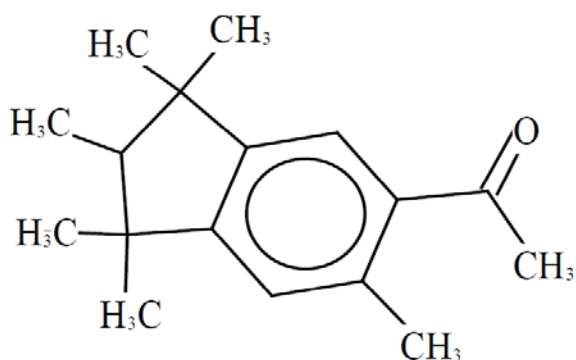
Obrázek 9. Struktura celestolidu [37]

Tabulka 7. Fyzikálně chemické vlastnosti celestolidu [6, 36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
244,37186	0,957 ± 0,6	68,0 - 71,0	308,00 - 309,00	6,6	0,0192	nerozpustný

2.2.5.4 Phantolid

Zkratka	AHDI
Obchodní názvy	Musk indane, Phantolide, Ganolide
Systematický název (IUPAC)	1-(1,1,2,3,3,6-hexamethyl-2H-inden-5-yl)ethanone
Sumární vzorec	$C_{17}H_{24}O$
Vzhled	šedobílé krystaly
CAS index	15323-35-0



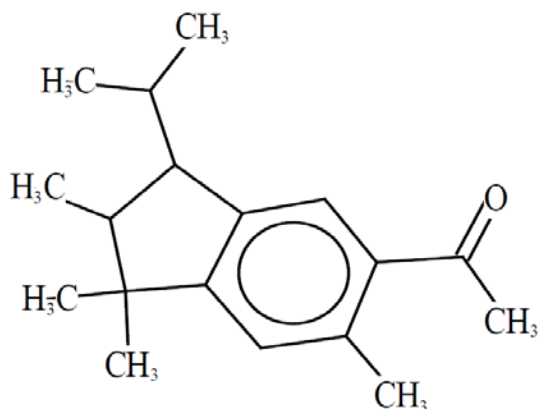
Obrázek 10. Struktura phantolidu [37]

Tabulka 8. Fyzikálně chemické vlastnosti phantolidu [6, 36, 37]

Molární hmotnost $M [g \cdot mol^{-1}]$	Hustota $\rho [g \cdot cm^{-3}]$	Teplota tání $t [^{\circ}C]$	Teplota varu $t [^{\circ}C]$	Log K_{ow}	Tlak nasycených par $p [Pa]$	Rozpustnost ve vodě
244,37186	0,928 $\pm 0,6$	37,0 - 58,0	393,00	6,7	0,0196	nerozpustný

2.2.5.5 Traseolid

Zkratka	ATII
Obchodní názvy	Musk methyl ketone, Traseolide
Systematický název (IUPAC)	1-(1,1,2,6-tetramethyl-3-propan-2-yl-2,3-dihydroinden-5-yl)ethanone
Sumární vzorec	$C_{18}H_{26}O$
Vzhled	světle žlutá až žlutá viskózní kapalina
CAS index	68140-48-7



Obrázek 11. Struktura traseolidu [37]

Tabulka 9. Fyzikálně chemické vlastnosti traseolidu [6, 36, 37]

Molární hmotnost M [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]	Hustota ρ [$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$]	Teplota tání t [$^{\circ}\text{C}$]	Teplota varu t [$^{\circ}\text{C}$]	Log K_{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
258,39844	0,933 $\pm 0,6$	-	300,00	6,3	0,0091	nerozpustný

2.2.6 Makrocyclické musk sloučeniny

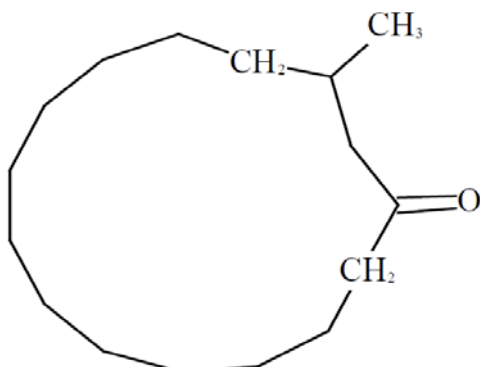
Třetí významnou skupinou syntetických vonných látek jsou makrocyclické musk sloučeniny. Vyznačují se výbornou stabilitou vůně, dobrými fixačními vlastnostmi a vysokou kvalitou vůně [2, 37].

Mají intenzivnější aroma než předchozí skupiny musk sloučenin. Další významnou vlastností je to, že budou mnohem méně nebezpečné pro životní prostředí, protože jsou pravděpodobně lépe biodegradovatelné [8, 37]. I přes tato pozitiva tvořila produkce makrocyclických musk sloučenin do nedávné doby pouze 3 – 4 % z celkové produkce syntetických vonných látek [8, 11]. Důvodem je jejich nákladná a složitá průmyslová výroba [38]. V dnešní době se vzhledem ke zdokonalování výroby stávají stále více dostupné. Hlavním důvodem je však pokles produkce nitromusk a polycyclických musk sloučenin [8]. Dostávají se do popředí zájmu vzhledem ke svým vynikajícím vlastnostem, ačkoliv je jejich cena za kilogram mnohonásobně vyšší než např. za polycyclické musk sloučeniny [37, 38]. Makrocyclické musk sloučeniny jsou látky obsahující ketonovou nebo/a laktonovou skupinu [37] a dělí se na ketony, diketony, laktony, oxalaktony, dilaktony, keto-laktony a estery. Jejich molekuly se skládají z 15 a více atomů uhlíku spojených do cyklu, a proto se nazývají makrocyclické [37].

2.2.7 Přehled nejdůležitějších makrocyclických musk sloučenin

2.2.7.1 Muskon

Obchodní názvy	Muskone, Muscone
Systematický název (IUPAC)	3-methylcyclopentadecan-1-one
Sumární vzorec	$C_{16}H_{30}O$
Vzhled	bezbarvá čirá kapalina
CAS index	541-91-3



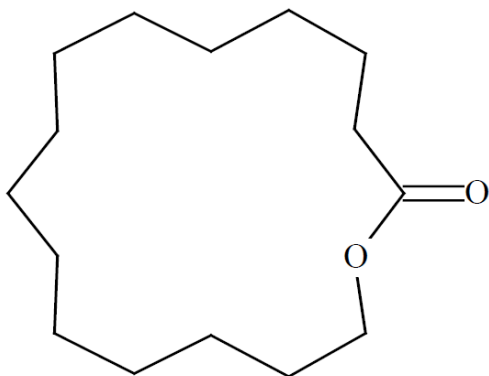
Obrázek 12. Struktura muskonu [37]

Tabulka 10. Fyzikálně chemické vlastnosti muskonu [36, 37]

Molární hmotnost M [$g \cdot mol^{-1}$]	Hustota ρ [$g \cdot cm^{-3}$]	Teplota tání t [$^{\circ}C$]	Teplota varu t [$^{\circ}C$]	Log K_{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
238,4088	0,843 $\pm 0,6$	8,6	320,0 – 329,0	5,9	-	nerozpustný

2.2.7.2 Cyclopentadecanolid

Obchodní názvy	Exaltolide, Pentalide, Thibetolide, Macrolide, Muscolactone
Systematický název (IUPAC)	16-oxacyclohexadecan-1-one
Sumární vzorec	$C_{15}H_{28}O_2$
Vzhled	bezbarvá pevná látka
CAS index	106-02-5



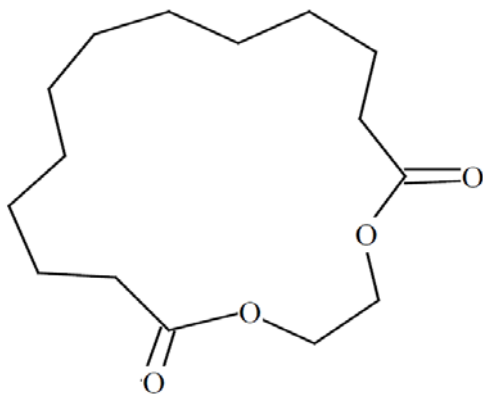
Obrázek 13. Struktura cyclopentadecanolidu [37]

Tabulka 11. Fyzikálně chemické vlastnosti cyclopentadecanolidu [36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K_{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
240,38162	0,892 ± 0,6	34,00 - 38,00	320,0 – 329,0	6,1	-	nerozpustný

2.2.7.3 Ethylenbrassylat

Obchodní názvy	Ethylene brassylate, Astratone, Musk NN, Musk T,
Systematický název (IUPAC)	1,4-dioxacycloheptadecane-5,17-dione
Sumární vzorec	$C_{15}H_{26}O_4$
Vzhled	bezbarvá až světle žlutá čirá viskózní kapalina
CAS index	105-95-3



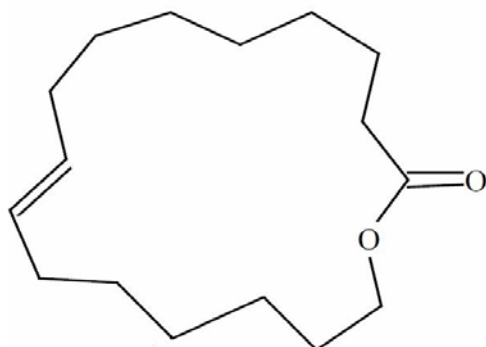
Obrázek 14. Struktura ethylenbrassylatu [37]

Tabulka 12. Fyzikálně chemické vlastnosti ethylenbrassylatu [36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
270,36454	0,977 ± 0,6	-	330,00 – 331,00	4,4	-	nerozpustný

2.2.7.4 Ambrettolid

Obchodní názvy	Musk natural, Natural musk ambrette, Ambrettolide
Systematický název (IUPAC)	(8Z)-1-oxacycloheptadec-8-en-2-one
Sumární vzorec	C ₁₆ H ₂₈ O ₂
Vzhled	bezbarvá až světle žlutá kapalina
CAS index	123-69-3



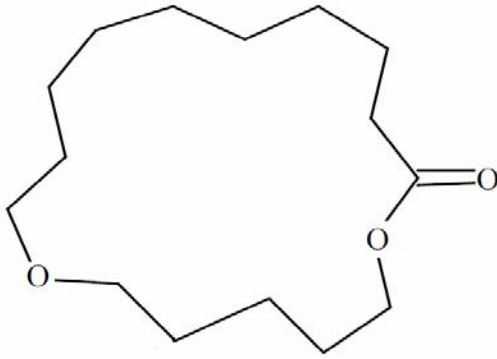
Obrázek 15. Struktura ambrettolidu [37]

Tabulka 13. Fyzikálně chemické vlastnosti ambrettolidu [36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
252,39232	0,893 ± 0,6	-	398,00 – 399,00	6,1	-	nerozpustný

2.2.7.5 Musk R1

Obchodní názvy	Musk lactone, Musk R1
Systematický název (IUPAC)	1,7-dioxacycloheptadecan-8-one
Sumární vzorec	C ₁₅ H ₂₈ O ₃
Vzhled	bezbarvé krystaly
CAS index	3391-83-1



Obrázek 16. Struktura musk R1 [37]

Tabulka 14. Fyzikálně chemické vlastnosti musk R1 [36, 37]

Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	Hustota ρ [g·cm ⁻³]	Teplota tání t [°C]	Teplota varu t [°C]	Log K _{ow}	Tlak nasycených par p [Pa]	Rozpustnost ve vodě
256,38102	0,915 ± 0,6	30,00	-	4,1	-	nerozpustný

2.2.8 Alicyklické musk sloučeniny

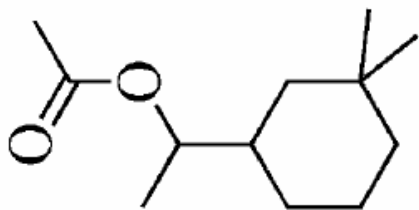
Nejmladší “novou” skupinou musk sloučenin jsou lineární, neboli alicyklické musk sloučeniny. Tato čtvrtá skupina se dostává do popředí zájmu především pro svou ekonomickou výrobu; narozdíl od makrocyclických musk sloučenin je jejich syntéza mnohem levnější. Historie alicyklických musk sloučenin se datuje od roku 1975, kdy Hoffmann a von Fraunberg objevili sloučeninu Cyklomusk s ovocnou vůní. Cyklomusk, neboli cyklopentenyl ester, je derivát cyklopentenu. O 15 let později byl objeven Helvetolid, což je derivát cyklohexanu. V dnešní době je známo více než 114 alicyklických musk sloučenin s podobnou strukturou a rozmanitými vůněmi [39, 40, 41, 42].

Alicyklické musk sloučeniny jsou většinou estery cyklohexanu.

2.2.9 Přehled nejdůležitějších alicyklických musk sloučenin

2.2.9.1 Rosamusk

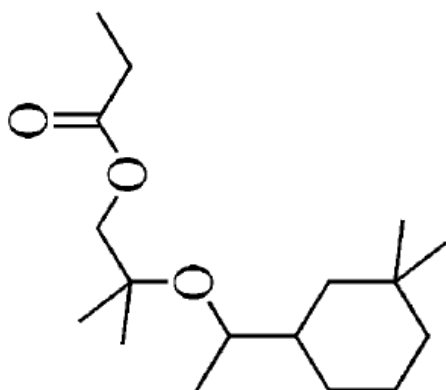
Obchodní názvy	Musk acetate, Rosamusk
Systematický název (IUPAC)	1-(3,3-dimethylcyclohexyl)ethyl acetate
Sumární vzorec	C ₁₂ H ₂₂ O ₂
Molární hmotnost M [g·mol ⁻¹]	198.30188
CAS index	25225-10-9



Obrázek 17. Struktura rosamusk

2.2.9.2 *Helvetolid*

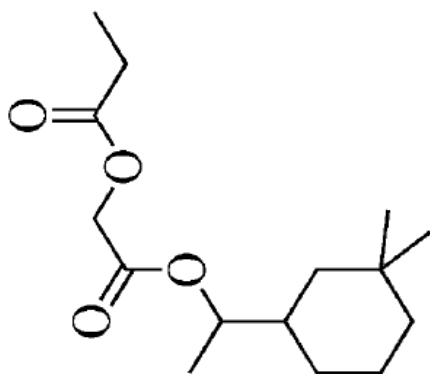
Obchodní názvy	Musk propanoate, Helvetolide
Systematický název (IUPAC)	2-(1-(3',3'-dimethyl-1'-cyclohexyl)ethoxy)-2-methyl propyl propanoate
Sumární vzorec	$C_{17}H_{32}O_3$
Molární hmotnost M [$g \cdot mol^{-1}$]	284.43418
CAS index	141773-73-1



Obrázek 18. Struktura helvetolidu [40]

2.2.9.3 *Romandolide*

Obchodní názvy	Romandolide
Systematický název (IUPAC)	1-[(3',3'-dimethyl-1'-cyclohexyl)-ethoxycarbonyl]methyl propanoate
Sumární vzorec	$C_{15}H_{26}O_4$
Molární hmotnost M [$g \cdot mol^{-1}$]	270.36454



Obrázek 19. Struktura romandolidu [40]

2.3 Produkce syntetických musk sloučenin

V průmyslu vonných látek je sice používáno více než 3000 různých chemických sloučenin, ale pouze několik set z nich v množství větším než 50 tun za rok. Syntetické musk sloučeniny představují 80 – 90 % z této skupiny [42].

Historie produkce syntetických musk sloučenin souhlasí s výše uvedeným rozdělením těchto látek do jednotlivých skupin. Nejdříve byly vyráběny téměř výhradně nitromusk sloučeniny, a to v obrovských množstvích. S postupem času byla jejich výroba snížena a v evropské unii (EU) úplně zastavena, a to na základě prokázaných negativních toxikologických a ekotoxikologických vlastností. Nahradily je polycyklické musk sloučeniny které postupně ovládly až 95% trhu s vonnými látkami [37, 42, 43]. Avšak u polycyklických musk sloučenin byl trend podobný jako u nitromusk sloučenin. Postupem času byly také u nich prokázány nebezpečné vlastnosti a jejich užívání a výroba byla omezena. V současnosti je trendem v průmyslu vonných látek používat makrocyclické a „nové“ alicyklické musk sloučeniny.

Celosvětová produkce syntetických musk sloučenin dosáhla v roce 1988 7000 tun. Z toho připadalo 4300 tun na polycyklické musk sloučeniny, což představuje 61 % celkového množství, 2450 tun na nitromusk sloučeniny (35 %) a přibližně 250 tun na makrocyclické musk sloučeniny (3 – 4 %). Od roku 1996 již lze pozorovat značný úbytek produkce nitromusk sloučenin. V tomto roce jich bylo vyrobeno pouze přibližně 700 tun a toto množství představovalo 12 % produkce syntetických musk sloučenin. Polycyklických musk sloučenin bylo vyrobeno více než 5000 tun, což bylo více než 85 % celkového množství syntetických vonných látek [42].

Nejvíce sledovanou látkou ze všech je musk xylen, který byl jako první vyráběn v obrovských množstvích a rozšířil se po celém světě.

Přehled množství spotřebovaného musk xylenu na území EU v letech 1998 – 2008 je uveden v tabulce 15; zároveň je zde vidět výrazný pokles v používání této látky v posledních letech [44].

Celkové shrnutí spotřebovaných nitromusk a polycyklických musk sloučenin v EU v letech 1992 - 2000 ukazuje tabulka 16.

Tabulka 15. Odhad množství použitého musk xylenu (v tunách) ve výrobcích na území EU [44]

Rok	Množství (t)	Pokles (%)
1992	174	-
1995	110	37
1998	86	22
2000	67	22
2002	52	22
2004	41	22
2006	32	22
2008	25	22

Tabulka 16. Odhad množství použitých musk sloučenin (v tunách) ve výrobcích na území EU [37, 43]

Rok	Nitromusk sloučeniny		Polycyklické musk sloučeniny	
	Musk keton (t)	Musk xylen (t)	Galaxolid (t)	Tonalid (t)
1992	124	174	2400	885
1995	61	110	1482	585
1996	54	105		
1998	40	86	1473	385
2000	35	67	1427	358

2.4 Syntetické musk sloučeniny a životní prostředí

V dnešní době je sice již k dispozici množství studií, které se zabývaly a hodnotily chování a osud syntetických vonných látek v životním prostředí; přes to však stále nejsou tyto informace kompletní. Většina prací se zabývá pouze nepoužívanějšími a nejrozšířenějšími musk sloučeninami, jako jsou musk keton, musk xylen, galaxolid a tonalid. Pro ostatní zástupce nitromusk a polycyklických musk sloučenin jsou informace dosud buď nekompletní nebo žádné. Podobně je na tom také skupina makrocyclických musk sloučenin. U těchto sloučenin jsou alespoň k dispozici softwarové modely, které mohou být odlišné od reálného chování látek v ŽP.

V 90. letech minulého století byly některé musk sloučeniny zařazeny na seznam perzistentních organických polutantů (POPs).

Existující studie se shodují na základních fyzikálně chemických a ekotoxikologických parametrech musk sloučenin, které hodnotí nebezpečnost látky v životním prostředí jako jsou např.:

Rozpustnost ve vodě (R_{H_2O})

- čím vyšší rozpustnost, tím bývá látka snadněji odbouratelná v životním prostředí;

Rozdělovací koeficient n-oktanol – voda (K_{ow})

- čím vyšší rozdělovací koeficient, tím bývá látka lépe rozpouštěna a akumulována v tucích
- látky snadno rozpustné v tucích mají $K_{ow} > 4$;

Biokoncentrační faktor (BCF)

- je to parametr vyjadřující poměr koncentrací sledované látky v biotě a v zevním prostředí, ve kterém daný organismus žil
- ukazuje míru přechodu látky a biokoncentrace z prostředí do organismu;

Tlak nasycených par

- tento parametr je důležitý při hodnocení způsobu atmosférického transportu
- látky s hodnotami tlaku nasycených par nižšími než $1 \cdot 10^{-7}$ mPa jsou vázány s pevnými částicemi, látky s vyšší tenzí par se nacházejí v plynné formě a jsou tedy snadněji transportovány atmosférou.

2.4.1 Možnosti vstupu musk sloučenin do životního prostředí

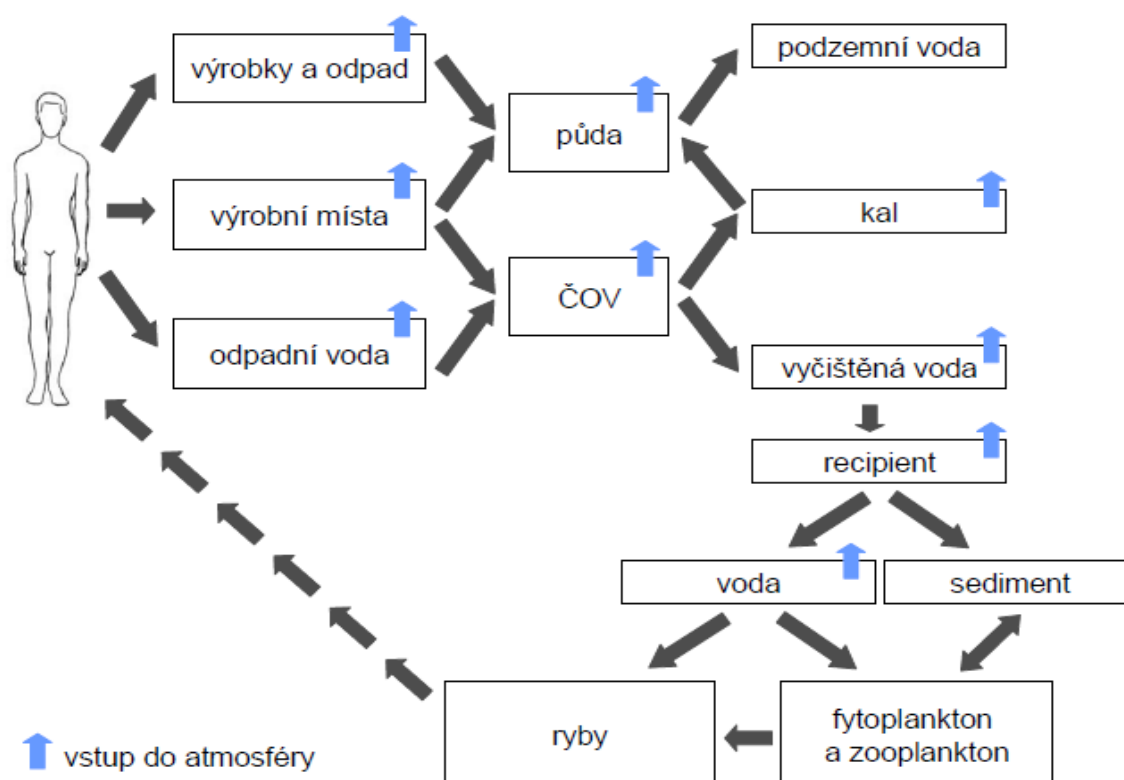
Jak již bylo uvedeno v kapitole 2.2.1, syntetické vonné látky byly postupně detekovány ve všech složkách životního prostředí.

K jejich průniku do ŽP mohlo dojít několika cestami:

- Prostřednictvím odpadních vod
- Odpady; nepoužité produkty obsahující musk sloučeniny
- Kontaminace v místech výrobních závodů těchto látek.

Největší podíl na celkovém znečištění mají odpadní vody. Do odpadních vod odtékají téměř všechny použité čisticí a kosmetické prostředky. Při běžném procesu čištění odpadních vod nedochází k dostatečnému odstranění syntetických musk sloučenin, biologický stupeň čištění odpadních vod je na tyto látky neúčinný.

Z čistíren odpadních vod se musk sloučeniny dostávají do ŽP také s kaly, ve kterých jsou kumulovány a rovněž s vyčištěnou vodou do recipientu. Z vodních toků a nádrží pak už dochází ke kumulaci v sedimentech a v potravním řetězci. Na obrázku 20 je znázorněno možné schéma distribuce syntetických vonných látek mezi jednotlivými složkami životního prostředí.



Obrázek 20. Schéma distribuce musk sloučenin mezi jednotlivými složkami životního prostředí [45].

2.4.2 Výskyt a chování musk sloučenin v jednotlivých složkách životního prostředí

2.4.2.1 Atmosféra

Z hlediska hodnocení osudu musk sloučenin v ŽP má atmosférický výskyt malý význam. Sledované analyty jsou sice semivolatilní a do atmosféry se uvolňují téměř ze všech matric; zde však podléhají mnoha fotodegradačním reakcím s OH, NO₃ a O₃ radikály a jejich poločasy života dosahují několika desítek hodin [46]. Proto je případná atmosférická depozice těmito látkami spíše lokálním problémem [47]. I přes toto tvrzení byly některé druhy musk sloučenin detekovány v různých studiích v atmosféře [8, 15, 16].

2.4.2.2 Pedosféra

Musk sloučeniny mají velkou afinitu k organickým částicím, kterých je v půdě přítomno vysoké procento. Hlavním zdrojem kontaminace půdy jsou kaly z čistíren odpadních vod [5]. Čistírenské kaly jsou používány v zemědělství jako hnojivo. Vyhláškou 382/2001 Sb. „O podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě“ jsou vyhláškou limitovány jen těžké kovy, polychlorované bifenyly (PCBs) a některé patogenní mikroorganismy [48]. Množství musk sloučenin, stejně jako dalších nebezpečných a potenciálně nebezpečných látek v kalech, legislativně prozatím ošetřeno není.

Další možností kontaminace půdní složky je havárie s únikem těchto látek. Tato kontaminace má však pouze lokální působení.

Musk sloučeniny se mohou do půdy dostat také s dešťovou vodou. Výsledky výzkumu komise OSPAR prokázaly, že HHCB a AHTN byly přítomny v koncentracích ng/l ve všech vzorcích dešťové vody které analyzovali, přičemž 4 % vzorků dešťové vody obsahovaly musk keton, musk xylen nebyl v dešťové vodě vůbec detekován. I přes tyto údaje představuje kontaminace dešťovou vodou pouze zlomek, v porovnání s kontaminací půdy čistírenskými kaly.

2.4.2.3 Hydrosféra

Hydrosféra, do které zahrnujeme vody mořské, povrchové i odpadní, je nejvíce exponovanou složkou ŽP musk sloučeninami.

Jak již bylo řečeno v předchozích kapitolách, největší podíl na kontaminaci vodního ekosystému mají odpadní vody. Do odpadních vod se dostává velké množství použitých přípravků obsahujících syntetické musk sloučeniny, jak bylo publikováno v řadě studií [5, 6, 7, 8, 12, 13, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 37, 42, 43].

Účinnost čistícího procesu v ČOV není pro musk sloučeniny zdaleka 100%. Jednotlivé studie se v udávané účinnosti od sebe liší, vždy však záleží na použité technologii čištění. Účinnost odstranění kolísá mezi 34 – 87 % pro nitromusk a 60 – 86 % pro polycyklické musk sloučeniny [49]. Vyčištěná voda s nedostatečně odstraněnými musk sloučeninami pak putuje přímo do recipientu, tj. do povrchových vod, kterými jsou vodní toky a vodní nádrže. V mnoha studiích byla potvrzena přítomnost musk sloučenin v povrchových vodách [3, 6, 11, 12, 17, 18, 37, 42, 43].

2.4.2.4 Sedimenty a suspendované sedimenty

V sedimentech a v jejich suspendované formě je pravděpodobně zachyceno největší množství musk sloučenin [2, 5, 6, 8]. Jejich koncentrace může být až stonásobně vyšší než

v ostatních matricích. Značný obsah těchto analytů je dán vysokou afinitou musk sloučenin sorbovat se a akumulovat se v sedimentech. Minerální částice mají velký specifický povrch, nachází se zde velké množství organické hmoty a v hloubkách probíhají v sedimentech anaerobní pochody. Takto nasorbovaná a akumulovaná množství jsou velkým rizikem, protože se mohou ze sedimentů zpětně uvolňovat a dostanou se tak zpět do povrchových vod a odtud přímo do potravního řetězce.

2.4.2.5 Biosféra

Biosféra je druhou velkou „zásobárnou“ musk sloučenin a jejich metabolitů. Jak již bylo řečeno v kapitole 2.2.1, jsou musk sloučeniny perzistentní lipofilní látky s vysokou schopností bioakumulace, představující příjem xenobiotika z vnějšího prostředí a biokoncentrace, která je výsledkem simultánního příjmu a výdeje xenobiotika. Tyto vlastnosti ústí v bioobohacování, což je zvyšující se koncentrace xenobiotika na vyšších úrovních potravního řetězce.

Nejvíce exponovanou skupinou jsou jednoznačně vodní živočichové [2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 19, 23]. Z hlediska jejich umístění na potravní pyramidě budou ve vodním ekosystému nejvíce kontaminovány dravé ryby. Vyšší úroveň kontaminace lze také předpokládat u suchozemských živočichů živících se rybami a u ptáků – dravců.

Člověk může musk sloučeniny dostávat do svého těla rovněž potravou. Za mnohem významnější zdroj kontaminace lze považovat přímé používání přípravků, ve kterých jsou musk sloučeniny obsaženy. Jedná se především o použití přípravků na kůži, při které může dojít k transdermální aplikaci, případně o používání různých osvěžovačů vzduchu, kdy může dojít k vdechování těchto látek, případně k aplikaci inhalační [5].

Přítomnost musk sloučenin v těle člověka byla potvrzena řadou studií; musk sloučeniny byly detekovány převážně v mateřském mléce, tukové tkáni a v krevním séru člověka [2, 3, 5, 9, 10, 14, 16, 20, 23, 37, 42, 43].

2.4.3 Rozklad a metabolizace musk sloučenin

Metabolizace a vlastnosti metabolitů musk sloučenin jsou v současnosti předmětem intenzivního výzkumu. Nejvíce prozkoumány jsou ty látky, které se v životním prostředí vyskytují nejdéle, tj. nitromusk a polycyklické musk sloučeniny.

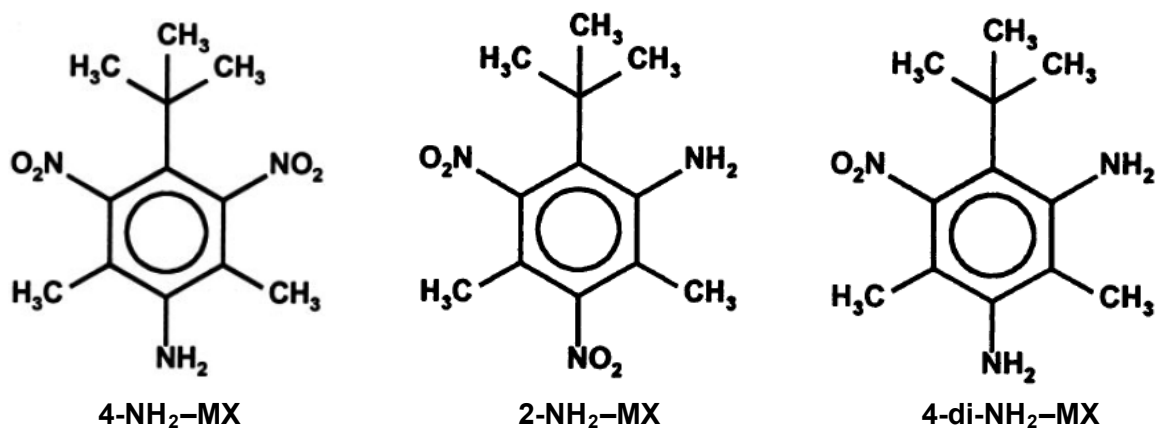
I přes vysokou odolnost musk sloučenin vůči všem druhům rozkladu se začaly v ŽP objevovat strukturálně velmi podobné látky. Bylo prokázáno, že některé z nich podléhají částečné metabolizaci [37]. Mnohem méně prozkoumanou skupinou jsou makrocyklické musk sloučeniny, které však jsou podle dostupných informací mnohem lépe biologicky odbouratelné [44].

2.4.3.1 Nitromusk sloučeniny – musk xylen a musk keton

Metabolity musk xyleny a musk ketonu byly poprvé identifikovány ve vzorcích vody odebrané v čistírně odpadních vod v Hamburgu a ve vzorcích vody z řeky Labe v Německu [50].

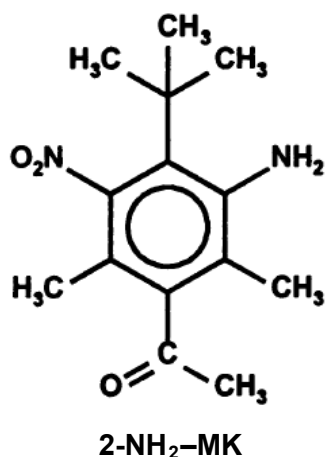
U obou látek může docházet k redukci nitroskupiny (přes dílčí reakce, při kterých vzniká nitroskupina a hydroxylamin) za vzniku aminosloučeniny. Aminometabolity těchto musk sloučenin bývají ve vodách v několikanásobně vyšších koncentracích, než původní nemetabolizované látky. Dokonce byly zjištěny i tam, kde předtím nebyly původní sloučeniny vůbec detekovány [13, 14, 43]. Tyto metabolity také mohou mít mnohem nebezpečnější vlastnosti [19].

Musk xylen ve své molekule obsahuje tři nitroskupiny. V přírodě probíhá redukce převážně v poloze para a vzniká tak 4-NH₂-MX (4-amino-1-tert-butyl-3,5-dimethyl-2,6-dinitrobenzen). Mnohem menší zastoupení v přírodě má ortho metabolit 2-NH₂-MX (2-amino-1-tert-butyl-3,5-dimethyl-4,6-dinitrobenzen). Jen výjimečně vzniká metabolit s dvěma aminoskupinami 2,4-di-NH₂-MX (2,4-diamino-1-tert-butyl-3,5-dimethyl-6-nitrobenzen) [50].



Obrázek 21. Aminometabolity musk xyleny [50]

Musk keton, který obsahuje nitroskupiny dvě, a to v poloze orto, poskytuje pouze jeden metabolit 2-NH₂-MK (2-amino-1-tert-butyl-3,5-dimethyl-6-nitro-4-acetylbenzen) [50].

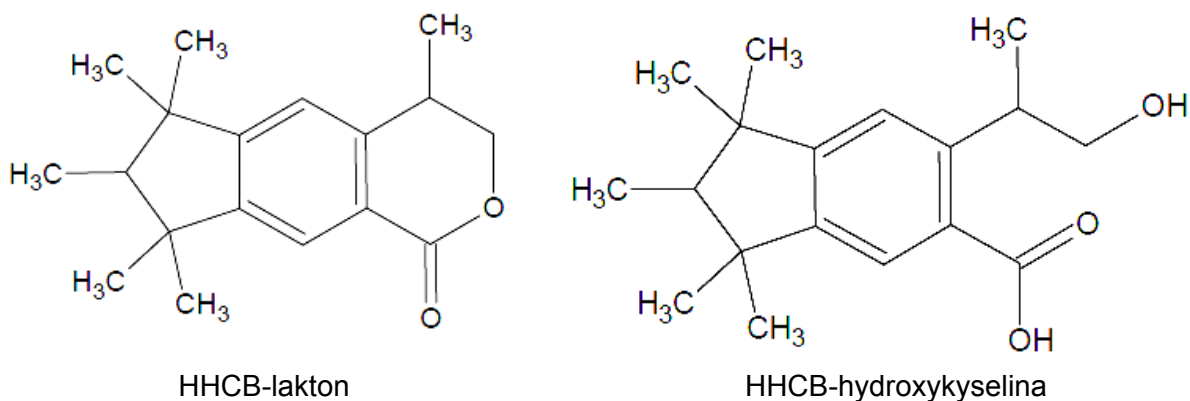


Obrázek 22. Aminometabolit musk ketonu [50]

2.4.3.2 Polycyklické musk sloučeniny – galaxolid a tonalid

Z polycyklických musk sloučenin je znám pouze metabolismus galaxolidu, možný metabolismus tonalidu a dalších polycyklických musk sloučenin je stále předmětem výzkumu.

Řada již publikovaných studií prokázala, že galaxolid je metabolizován rybami, dále v půdě a při čištění odpadních vod [2, 12, 37, 42]. Galaxolid je metabolizován na polárnější látky, vznikají HHCB-lakton a HHCB-hydroxykyselina.



Obrázek 23. Metabolity galaxolidu [47].

Syntetické musk sloučeniny jsou perzistentní látky, které odolávají rozkladu v ŽP. Jsou fotostabilní, termostabilní a biochemicky stabilní. Perzistence je vlastnost, kterou lze charakterizovat dobou setrvání látky v různých složkách ŽP, kterou obvykle vyjadřujeme poločasem rozpadu $t_{1/2}$.

Další možnosti rozkladu a degradace kromě výše rozebrané metabolizace vybraných musk sloučenin uvádí tabulka 17. V tabulce je také uveden závěr vyplývající ze všech druhů rozkladu.

Tabulka 17. Rozklad musk sloučenin mineralizací a fotodegradací [37]

Musk sloučenina	Proces rozkladu	Závěr
MUSK XYLEN (MX)	<i>Mineralizace:</i> nebyla prokázána	Perzistentní
	<i>Fotodegradace:</i> byla pozorována (UV-záření, reakce s OH radikály)	
MUSK KETON (MK)	<i>Mineralizace:</i> nebyla prokázána	Perzistentní
	<i>Fotodegradace:</i> byla pozorována (UV-záření, reakce s OH radikály)	
GALAXOLID (HHCB)	<i>Mineralizace:</i> nebyla prokázána	Potenciálně perzistentní
	<i>Fotodegradace:</i> byla pozorována (UV-záření, reakce s OH radikály)	
TONALID (AHTN)	<i>Mineralizace:</i> byla pozorována pouze částečná (21%) za 21 dnů	Potenciálně perzistentní
	<i>Fotodegradace:</i> byla pozorována (UV-záření, reakce s OH radikály)	
MAKROCYKLICKÉ MUSKY	Kompletní informace nejsou k dispozici, ale předběžně jsou hodnoceny jako lépe odbouratelné, než předchozí látky.	Nejsou perzistentní

2.4.4 Bioakumulace a toxicita musk sloučenin

2.4.4.1 Bioakumulace

Bioakumulace je děj, při kterém živý organismus přijímá xenobiotikum z vnějšího prostředí. Musk sloučeniny jsou látky lipofilní a hromadí se v tukových tkáních živočichů, tj. dochází k jejich bioakumulaci.

Ke zhodnocení míry bioakumulace se používají následující kritéria [51]:

- biokoncentrační faktor (BCF) je poměr koncentrace chemické látky nalezené v biotě ku koncentraci v zevním prostředí (voda), ve kterém daný organismus žije
- bioakumulační faktor (BAF) je poměr koncentrace chemické látky v potravním řetězci a ve vnějším prostředí.

Bioakumulační faktor je velmi obtížné zjišťovat, a proto nejsou obvykle tyto informace k dispozici.

Bioakumulativní jsou látky, které mají $BCF > 2000$. Z nitromusk a polycyklických musk sloučenin překračuje pouze musk xylen tuto hodnotu.

2.4.4.2 Toxicita

Toxicita je schopnost látky poškozovat živý organismus; je dána jejími fyzikálně-chemickými vlastnostmi. V toxikologii existuje řada možností vstupu toxikantu do organismu [51].

Z hlediska možné expozice musk sloučeninami přicházejí v úvahu expozice externí i interní. Externí expozice je aplikace látky na kůži. Při ní může docházet k účinkům v místě aplikace, případně se látka vstřebává do tkání, přejde do krve a může pak působit na celý organismus. K interním expozicím můžeme zařadit aplikace látky perorální, prostřednictvím potravy, nebo inhalační (s vdechovaným vzduchem).

Existuje řada toxikologických a ekotoxikologických studií zabývajících se problematikou musk sloučenin [37, 42, 43, 47, 50]. Je třeba si uvědomit, že srovnávat lze pouze údaje pocházející z porovnatelných experimentů. Tím je v první řadě myšleno použití stejného testovaného organismu (včetně pohlaví), doby expozice, způsobu aplikace a obecně podmínek celého testu [52]. Rovněž toxikologie a ekotoxikologie musk sloučenin jsou dosud předmětem mnoha studií.

Zjišťovány jsou např. akutní toxicita – toxicita pro vodní živočichy, chronická toxicita – karcinogenita, mutagenita, teratogenita, působení musk sloučenin jako endokrinních disruptorů, alergenů atd.

Již na začátku 80. let minulého století bylo zjištěno, že nitromusk – musk ambrette má fotoalergický a neurotoxický účinek [11, 14, 34].

Další nitromusk sloučeninou s potvrzeným toxickým účinkem je musk xylen. Bylo prokázáno, že je to karcinogen 3. kategorie. Karcinogenem 3. kategorie je také pravděpodobně musk keton, ale o jeho zařazení na tento seznam nebylo dosud rozhodnuto [42]. Musk xylen je také pravděpodobným mutagenem. U musk xyleny a musk ketonu se předpokládá, že zvýšené hladiny jejich koncentrací v krvi těhotných žen mají souvislost se zvýšeným procentem potratů [5]. Akutní toxicita musk xyleny a musk ketonu pro savce je nízká [5, 10, 42].

Galaxolid a tonalid ze skupiny polycyklických musk sloučenin jsou pravděpodobnými endokrinními disruptory [37, 47]. Endokrinní disruptor působí na hormonální regulaci organismu. Existují dva typy endokrinních disruptorů. Mohou působit buď estrogenně, což znamená, že se látka váže na estrogenní receptor na buňce místo molekuly estrogenu a

způsobuje tak aktivaci buňky, nebo antiestrogenně, což znamená, že látky aktivitu estrogenu snižují [4].

Ze skupiny polycyklických musk sloučenin je prokazatelně neurotoxický versalid [11, 15]. Akutní toxicita galaxolidu a tonalidu je také nízká [5].

2.5 Metody vhodné pro stanovení musk sloučenin ve vodním ekosystému

Syntetické musk sloučeniny jsou semivolatilní nepolární organické látky, vyskytující se v životním prostředí ve stopových až ultrastopových množstvích. Těmto faktům je třeba podřídit celou techniku stanovení, od odběru vzorku, přes veškerou manipulaci, až po analytickou koncovku.

Je důležité si uvědomit, že při stanovení semivolatilních vonných látek je nutno dodržovat určitá opatření. V první řadě analytik stanovující tyto látky by se měl po dobu stanovování musk sloučenin vyvarovat používání přípravků, které tyto látky obsahují. Jak už bylo několikrát uvedeno, nejde jen o parfémy a toaletní vody, ale o veškeré hygienické, kosmetické a čisticí prostředky. Také je třeba dávat pozor na osvěžovače vzduchu a tkaniny prané v běžných pracích prostředcích.

Dále je nutno uvažovat semivolatilitu nejen jako příčinu možných ztrát analytu při stanovení. S musk sloučeninami by se mělo pracovat zásadně v zapnuté digestoři a v rukavicích. Při manipulaci se standardy se musí pracovat rychle a dbát na to, aby nebylo kontaminováno prostředí, kde se manipuluje se vzorky.

Používané laboratorní sklo a laboratorní pomůcky nelze čistit běžnými čisticími prostředky, jary apod., ale je nezbytné používat neparfemované chemikálie, kyseliny, organická rozpouštědla apod. Laboratorní sklo se musí sušit při vyšších teplotách.

Postup stanovení zahrnuje tyto kroky:

- Odběr vzorku
- Transport do laboratoře
- Uchování vzorku
- Izolace analytů z matrice
- Identifikace a izolace analytů

2.5.1 Odběr vzorku

Odběr vzorku je prvním krokem z řady úkonů vykonávaných s analyzovaným materiálem, a proto je velmi důležité provádět odběr tak, aby byl vzorek reprezentativní. Reprezentativní znamená, že vzorek poskytuje informaci o celé lokalitě odběru.

2.5.2 Transport vzorku do laboratoře

Transport vzorku by měl být proveden v co nejkratším čase a za podmínek, které neovlivní stav analytů. Pro transport odpadní vody za účelem stanovení semivolatilních musk sloučenin platí: transportovat v tmavých skleněných lahvích, naplněných po okraj, s pevně uzavřených víčkem. Pokud možno transport provést rychle a nevystavovat vzorky vyšším teplotám.

2.5.3 Uchování vzorků v laboratoři

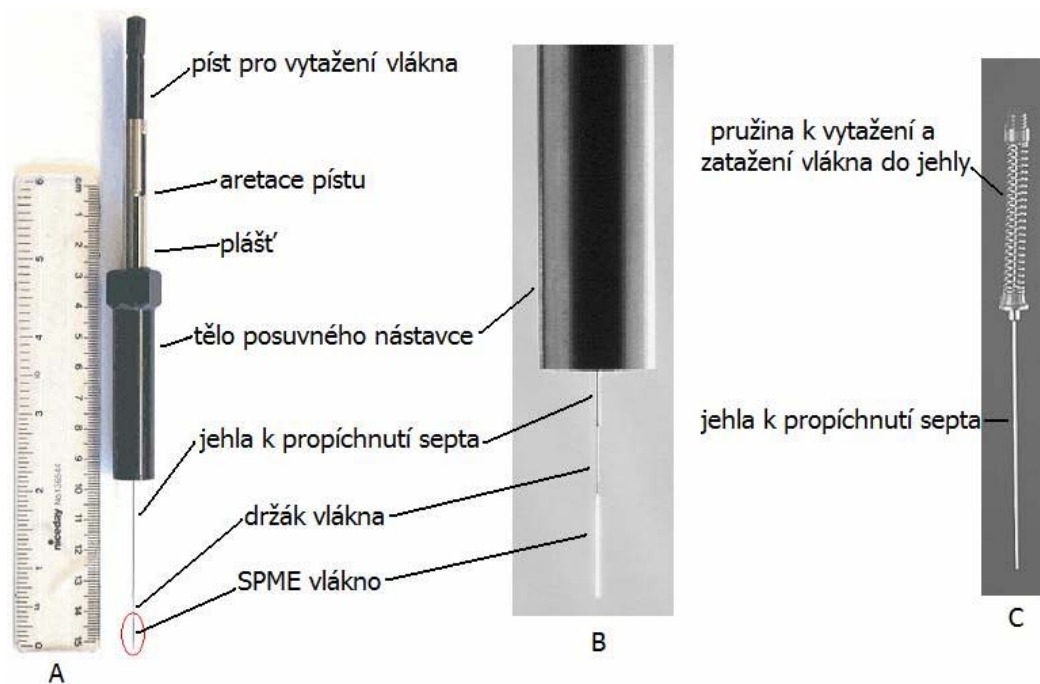
Po dopravení do laboratoře by měly být vzorky v co nejkratším čase zpracovány a analyzovány. Někdy je nutné vzorky uchovat a analyzovat později. Skladování vzorků odpadní vody probíhá v nádobách, do kterých byl vzorek odebrán. Tím je zamezeno dalším ztrátám a možným chybám při manipulaci se vzorkem. Vzorky by měly být skladovány v chladu a temnu. Nízká teplota eliminuje ztráty vypařováním a biodegradací analytu, uchování v temnu pak eliminuje možnosti fotodegradace analytu.

2.5.4 Izolace analytů z matrice – Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Cílem většiny používaných postupů přípravy vzorků před vlastní analýzou rozhodčí metodou je získání analytu v dostatečném, detekovatelném množství, bez nežádoucích příměsí. Za tímto účelem byla vyvinuta technika, která usnadňuje přípravu a analýzu vzorku. Vhodná technika pro tyto účely je známá pod zkratkou SPME. Metoda SPME – mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Microextraction) patří do skupiny separačních metod. Principem SPME je expozice malého množství extrakční fáze nadbytkem vzorku. Je to metoda rovnovážná – analyty jsou na SPME vlákne sorbovány tak dlouho, dokud není dosaženo rovnováhy. Metoda se používá ve spojení s plynovou i kapalinovou chromatografií. Podle typu stanovovaného analytu volíme typ vlákna. Volbou vhodného typu vlákna se dosáhne reprodukovatelných výsledků i pro nízké koncentrace analytů. Množství extrahovaného analytu je závislé na hodnotě rozdělovacího koeficientu. Metoda SPME poskytuje lineární odezvy v širokém koncentračním rozsahu. Je samozřejmě důležité dodržet shodné podmínky sorpce, aby byly výsledky reprodukovatelné [54]. Tuto sorpčně-desorpční techniku vyvinul Janusz Pawliszin na Universitě of Waterloo, Ontario, Kanada.

Výhodou této techniky je, že je jednoduchá na provedení, časově nenáročná, nepotřebujeme rozpouštědla na provedení extrakce a přitom je vysoce spolehlivá. Významně se rovněž zkracují časy potřebné pro analýzy vzorků. Kombinují se totiž operace vzorkování, extrakce, zakoncentrování a dávkování do jednoho kroku. Volbou vhodného typu polymeru a jeho tloušťky se dosáhne maximálního výtěžku a významného zlepšení sorpční selektivity. Další optimalizaci je možné provést také přidáním elektrolytu do vzorku, úpravou pH nebo vzorkováním z prostoru headspace.

Metoda SPME umožňuje při zachování konstantních podmínek vzorkování dosáhnout vysoké přesnosti a správnosti. Je třeba zajistit především shodnost v délce doby vzorkování, udržovat konstantní velikost vialek, velikost vzorku a při vzorkování s ponořením dodržovat stejnou hloubku ponoru vlákna do vzorku. V plynové chromatografii závisí desorpce analytu z SPME vlákna na bodu varu analytu, tloušťce polymeru a teplotě dávkovače. Techniku SPME lze používat jak pro orientační analytická stanovení, tak s interním standardem pro vysoce přesné a reprodukovatelné kvantitativní analýzy [54]. Na obrázku 24. je znázorněn celý systém SPME vlákna.

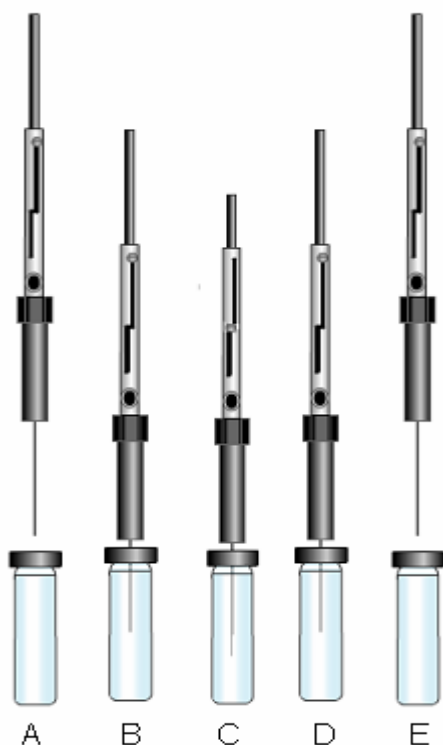


Obrázek 24. SPME systém.

A) celý systém, B) detail vlákna, C) výměnná část s vláknem

2.5.4.1 Manipulace s vláknem SPME

Křemenné vlákno pokryté sorpční vrstvou je spojeno s ocelovým držákem vlákna a umístěno v duté ocelové jehle, která vlákno chrání před mechanickým poškozením. Se SPME vláknem se manipuluje vždy tak, že je vlákno zataženo do jehly, která propíchně septum ve vialce a teprve poté je vlákno vysunuto pístem ven. Analyt se sorbuje do vrstvy pokrývající vlákno. Po dosažení sorpční rovnováhy (obvykle 2 – 30 minut) se vlákno opět zasune dovnitř jehly a spolu s ní je vytaženo z vialky. Při sorpci hraje nejdůležitější roli extrakční čas, který je většinou 15 – 20 minut. Extrakce z prostoru parní fáze je obvykle kratší než v případě, kdy se používá extrakce ponořením do vzorku. Tento parametr je také závislý na mnoha dalších faktorech, jako je molekulová hmotnost extrahovaných látek a použitý typ vlákna [54].



Obrázek 25. Znárodnění manipulace s SPME vláknem.

A) Přípravený systém SPME se zataženým vláknem před sorpcí; B) Propíchnutí septa ocelovou jehlou; C) Vytažení vlákna do prostoru vialky – sorpce; D) Po ukončení sorpce zatažení vlákna zpět; E) Vytažení celého systému SPME – připraveno k analýze

2.5.4.2 Princip SPME

Technika SPME je založena na sorpci analytů z roztoku nebo parní fáze nad roztokem do sorpční vrstvy polymeru pokrývající vlákno; sorpce probíhá do ustavení rovnováhy mezi jednotlivými fázemi. Rovnovážný stav SPME techniky je závislý na koncentraci analytu ve vzorku a na typu a tloušťce polymeru, který pokrývá křemenné vlákno. Množství sorbovaného analytu závisí také na distribuční konstantě. Distribuční konstanta vzrůstá s molekulovou hmotností a bodem varu analytu. Podle typu analytu se vybírá nejvhodnější polymer pokrývající vlákno; tím lze zvyšovat selektivitu a účinnost SPME techniky. Těkavé látky vyžadují silnější vrstvu polymeru a slabší vrstva je účinnější pro sorpci středně těkavých analytů. V případě kapalných vzorků je množství analytu adsorbovaného na vlákne při dosažení rovnováhy přímo úměrné množství analytu ve vzorku [54].

$$n = \frac{K_{fs} V_s V_f C_0}{V_s + K_{fs} V_f}$$

n Množství analytu extrahovaného absorpcí
 K_{fs} ...Rozdělovací koeficient systému vlákno/vzorek
 V_f Objem vrstvy na povrchu vlákna
 V_s Objem vzorku
 C_0 Počáteční koncentrace analytu ve vzorku

Z této rovnice vyplývá, že mezi koncentrací analytu ve vzorku a extrahovaným množstvím je lineární vztah. Materiály, které se používají pro SPME vlákna mají velkou afinitu k organickým molekulám. Hodnota K_{fs} je velká. Na vlákne dochází k zakoncentrování analytu, což následně vede ke zvýšení citlivosti metody. Hodnota K_{fs} nemůže být ve většině

případů dostatečně vysoká na to, aby došlo k extrakci veškerého analytu ze vzorku; proto je pro stanovení koncentrace nutná kalibrace, nebo použití vnitřního standardu. Rovnice dále ukazuje, že v případě, kdy je hodnota V_s velmi vysoká, nemá množství extrahovaného analytu souvislost s objemem vzorku. Toho se využívá při terénní analýze pro stanovení látek v ovzduší nebo v řekách.

2.5.4.3 Optimalizace SPME

Možnosti provedení

Existují dva základní způsoby extrakce analytu z analyzovaného prostředí.

- Přímé ponoření vlákna do kapalné matrice analytu tzv. direct immersing (DI).
- Extrakce z prostoru nad analytem v kapalném skupenství, který je umístěn v uzavřené lahvičce. Tato metoda je nazývána Head Space (HS).

HS-SPME je vhodná pro extrakci těkavých látek, dále látek o nízkém bodu varu a rovněž se používá pro vzorkování ovzduší. V plynném prostředí je pohyb molekul rychlejší a dojde k rychlejšímu ustavení rovnováhy mezi vláknem a analytem.

Naproti tomu DI-SPME je vhodná pro extrakci netěkavých látek. V případě, že jsou v matrici přítomny i makromolekulární látky a mechanické nečistoty, které by mohly ovlivnit průběh extrakce, je nutné SPME vlákno chránit membránou, nebo ještě před extrakcí upravit matrici filtrováním nebo odstředěním. Takto lze vzorkovat např. mléko nebo říční usazeniny [55].

Typy vláken

Výběr vhodné stacionární fáze zakotvené na SPME vlákně hraje klíčovou roli při stanovení látek pomocí SPME. Stacionární fáze můžeme hodnotit podle mnoha kritérií.

Jedno z možných rozdělení je založeno na tom, jestli je stacionární fáze na vlákno vázaná nebo nevázaná.

Vázané fáze jsou většinou stabilní v běžně používaných organických rozpouštědlech, avšak v některých nepolárních rozpouštědlech mohou slabě bobtnat. Nevázané fáze jsou vesměs stabilní v organických rozpouštědlech mísitelných s vodou, ve kterých mohou slabě bobtnat. Nikdy nesmí být čištěny nepolárními organickými rozpouštědly.

Dále můžeme stacionární fáze rozdělovat na:

- homogenní čisté polymery – absorbenty
- porézní částice suspendované v polymeru – adsorbenty.

Při absorpci je analyt zachycen přímo ve vrstvě pokrývající křemenné vlákno, naopak v případě adsorpce je analyt zachycen na povrchu porézních částic, které jsou suspendované ve vrstvě na povrchu vlákna [55].

Jednou z nejdůležitějších vlastností stacionární fáze je její tloušťka. Silnější vrstva je schopná sorbovat větší množství analytu než vrstva tenká. Silnější vrstva se proto hodí pro více těkavé látky, protože analyt je na tuto vrstvu sorbován rychleji, ve větším množství a dochází k menším ztrátám. Také dobře extrahuje složky o vysokém bodu varu; jejich sorpce je však zdlouhavá a při nedostatečném ošetření vlákna mezi jednotlivými extrakcemi může dojít k přenesení analytu na vlákno z jedné extrakce do dalších extrakcí. Naproti tomu tenká vrstva sice nemá tak dobré extrakční vlastnosti jako vrstva silná, ale termální desorpce probíhá rychleji. Proto je třeba při výběru vhodné tloušťky vrstvy přihlídnout nejen k množství extraktu získaného při extrakci a k velikosti molekul, ale také k časové náročnosti celého postupu.

Pro dosažení reprodukovatelných výsledků je důležitá volba vhodného vlákna, která záleží především na vlastnostech analytů. Mezi faktory, které mají největší vliv na extrakční proces,

patří molekulová hmotnost a charakter molekuly, polarita a přítomnost funkčních skupin, očekávaný detekční limit a lineární rozsah [54].

Tabulka 18. Přehled komerčně dostupných SPME vláken [54]

Stacionární fáze/tloušťka vrstvy	Zkratka názvu stacionární fáze a typ sorpce	Analytická koncovka	Doporučeno pro analýzu
Polydimethylsiloxan 100 µm	PDMS (adsorpce)	GC/HPLC	Těkavé látky
Polydimethylsiloxan 30 µm	PDMS (adsorpce)	GC/HPLC	Nepolární středně těkavé látky
Polydimethylsiloxan 7 µm	PDMS (adsorpce)	GC/HPLC	Slabě polární až nepolární středně těkavé látky
Polydimethylsiloxan/divinylbenzen 65 µm	PDMS/DVB (adsorpce)	GC	Polární těkavé látky
Polydimethylsiloxan/divinylbenzen 60 µm	PDMS/DVB (adsorpce)	HPLC	Obecné užití (pouze pro HPLC)
Polyakrylát 85 µm	PA (adsorpce)	GC/HPLC	Polární středně těkavé látky
Carboxen/polydimethylsiloxan 75 µm	CAR/PDMS (adsorpce)	GC	Stopové koncentrace těkavých látek
Carbowax/divinylbenzen 65 µm	CW/DVB (adsorpce)	GC	Polární látky
Carbowax/pryskyřice 50 µm	CW/TPR (adsorpce)	HPLC	Povrchově aktivní látky
Divinylbenzen/Carboxen/Polydimethylsiloxan 50 µm CAR / 30 µm PDMS	DVB/CAR/PDMS (adsorpce)	GC	Těkavé a středně těkavé látky C3-C20

Míchání vzorku

Míchání vzorku extrakci zlepšuje a zkracuje, obzvláště u molekul s vyšší molekulovou hmotností a s vysokým difúzním koeficientem. Důležitá je neměnná rychlost míchání, a to z důvodu zajištění reprodukovatelnosti. Ultrazvuk zvyšuje adsorpci analytu, avšak zároveň vede k zahřívání vzorku. Může pak odpařit vzorek do prostoru headspace a zlepšit tento způsob extrakce [54].

Vliv vysolování a pH

Těkavé analyty, které jsou schopné odpařování, mohou být extrahovány ponořením vlákna do vzorku nebo vzorkováním v prostoru headspace. Netěkavé musí být naopak extrahovány pouze ponořením vlákna. Přidání 25 - 30% (hmotnostních) chloridu sodného do vzorku nebo úprava pH vzorku před vlastní extrakcí zvyšuje iontovou sílu roztoku, a tím dochází ke

snižování rozpustnosti analytů. Zvýšení iontové síly roztoku přídatkem soli do vzorků má proto za následek zvýšení účinnosti extrakce pro řadu analytů, zvláště látek polárních a těkavých. To platí rovněž pro stopovou analýzu. Zvýšení iontové síly se nedoporučuje pro vysokomolekulární látky, které se může projevat vznikem interferujících píků. Změna pH také ovlivňuje rozpustnost některých analytů. Vhodnou kombinací vlivu iontové síly a hodnoty pH se zlepší extrakce analytu z prostoru headspace. Ustavení rovnováhy je rychlejší v prostoru headspace než při ponoření do vzorku proto, že se molekuly pohybují v plynné fázi mnohem rychleji než v kapalině [54].

2.5.4.4 Vlákno použité pro stanovení musk sloučenin v této diplomové práci

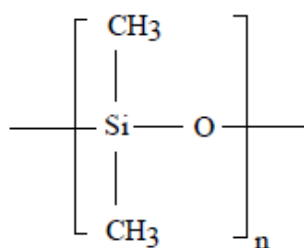
Polydimetylsiloxan/ divinylbenzen kopolymer (PDMS/DVB)

Toto vlákno má pevné částice DVB suspendovány v PDMS. Fyzikální veličiny jsou uvedeny v tabulce 19. DVB obsahuje hlavně velké a střední póry. Vlákna s touto porózitou zachycují pevně analyty s uhlíkovým řetězcem C₆ – C₁₅. Jsou vhodné zejména pro stopové analýzy těchto látek. Přítomnost DVB částic v PDMS zlepšuje sorpci malých analytů, která je výrazně lepší než na samotném PDMS. Tato kombinace vykazuje také zlepšení afinity pro polární analyty [54].

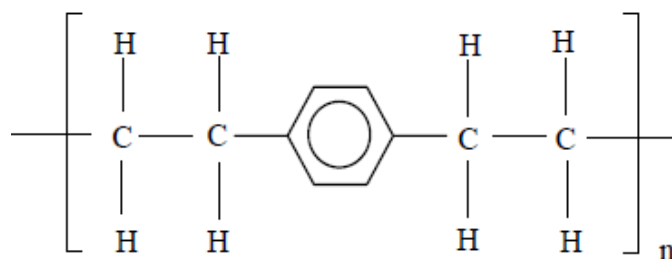
Tabulka 19. Fyzikálně chemické vlastnosti vlákna PDMS/DVB

Stacionární fáze	Tloušťka vrstvy	Typ fáze	pH	Pracovní teplota	Teplota aktivace	Doba aktivace
PDMS/DVB	65μm	vázaná	2-11	200-270 °C	250 °C	0,5 h

Polydimethylsiloxan (PDMS)



Divinylbenzen (DVB)



Obrázek 26. Vzorce polymerů polydimethylsiloxanu a divinylbenzenu [55]

2.5.5 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

2.5.5.1 Plynová chromatografie – GC (Gas chromatography)

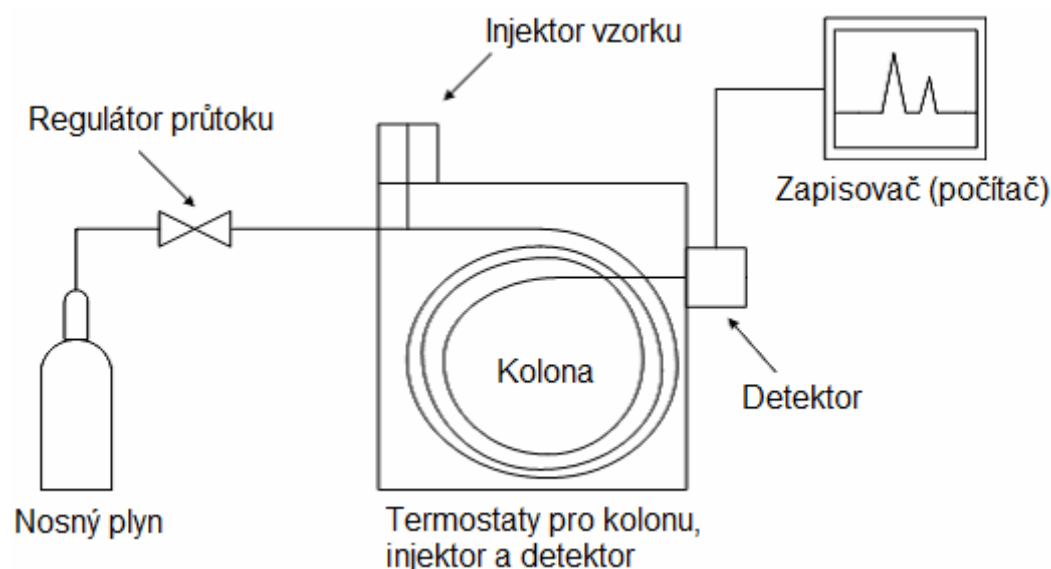
Chromatografie je analytická separační metoda. V chromatografii se vzorek vnáší mezi vzájemně nemísitelné fáze: *stacionární fáze* – je nepohyblivá fáze, *mobilitní fáze* – je fáze pohyblivá.

Vzorek je umístěn na začátek stacionární fáze, odkud je pomocí mobilní fáze unášen kolonou se stacionární fází. Složky vzorku mohou být stacionární fází zachycovány, a proto

se při pohybu zdržují. Více se zdrží ty složky, které jsou ke stacionární fázi poutány silněji. Tímto způsobem se od sebe složky vzorku postupně separují. [56]

Když v roce 1941 přišel A. J. P. Martin s koncepcí rozdělovací chromatografie, neopomněl přitom zdůraznit, že mobilní fázi může být nejen kapalina, ale také plyn. V průběhu čtyřicátých let byly činěny jisté pokusy o analytické využití distribuce látek v systému plyn - pevná látka; jednalo se však téměř výhradně o rovnováhy adsorpční. Za skutečný počátek plynové chromatografie je tak považován až rok 1950, kdy A. J. P. Martin a A. T. James poprvé referovali o předběžných výsledcích dosažených při separaci mastných kyselin pomocí rozdělovací plynové chromatografie. Konečná verze byla publikována v roce 1952 a ve stejném roce byl Martin oceněn Nobelovou cenou (spolu s R.L.M. Syngem za objev rozdělovací chromatografie). První komerční plynový chromatograf byl uveden na trh v roce 1955. Současná plynová chromatografie představuje díky své separační účinnosti a vysoké citlivosti jeden z nejmocnějších nástrojů analýzy organických sloučenin. Výhodou je také možnost relativně snadného spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií, která umožňuje rychlou identifikaci separovaných složek a zvyšuje citlivost a selektivitu analýzy [57].

Plynová chromatografie je metoda, která má výsadní postavení v analýze těkavých látek. Mezi hlavní výhody této techniky patří jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace látek a malé množství vzorku potřebného k analýze. Existuje mnoho variant účinné a selektivní separace, v praxi jsou však nejvíce rozšířené plynové chromatografy s kapilárními kolonami [58].



Obrázek 27. Schéma plynového chromatografu [58]

Princip separace pomocí GC

Analytická metoda plynové chromatografie je založena na opakovaném ustavení rovnovážného poměru koncentrace analytu mezi stacionární a mobilní fází. K opakovanému ustavení dochází v důsledku unášení analytu nacházejícího se v mobilní fázi nad nový, analytem dosud neobsazený díl stacionární fáze. Účinnost chromatografické kolony lze kvantifikovat pomocí tzv. počtu teoretických pater kolony nebo souvisejícího výškového ekvivalentu teoretického patra [59].

Stacionární a mobilní fáze

Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně. Stacionární fáze u náplňových kolon může být tvořena pevnou látkou, např. aktivním uhlím, silikagelem, oxidem hlinitým, polymerními sorbenty aj., nebo vysokovroucí kapalinou nanesenou v tenké vrstvě na pevném, inertním nosiči. U kapilárních kolon je stacionární fáze nanesená v tenké vrstvě přímo na upravenou vnitřní stěnu křemenné kapiláry. V plynové chromatografii je mobilní fází nosný plyn. Jako nosné plyny se nejčastěji používají vodík, dusík, helium a argon. Při volbě nosného plynu se zvažovat následující limitující faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ používaného detektoru a cena plynu. Průtok mobilní fáze musí být optimalizován tak, aby se dosáhlo co nejlepšího rozdělení látek na koloně [58].

Regulátory tlaku a průtoku

Jedná se o elektronické regulační zařízení, které slouží k ovládnutí průtoku a tlaku nosného plynu. Regulátor průtoku zaručuje konstantní průtok plynu kolonou a detektorem bez ohledu na typ nosného plynu, teplotu a rozměry kolony. Tlak je potom proměnnou veličinou a nastaví se automaticky podle viskozity plynu, vnitřního průměru kolony a délky kolony tak, aby průtok kolonou byl konstantní [56].

Injektor

Injektor představuje vstup analyzované látky do plynového chromatografu. Nástřik látky se nejčastěji provádí pomocí speciální injekční stříkačky přes septum, které odděluje vnitřek injektoru od vnějšího prostoru. Součástí injektoru je skleněná vložka (liner), ve které dochází pomocí vysoké teploty k rychlému odpaření vzorku a také ke správnému promíchání par vzorku s nosným plynem. Mezi injektorem a kolonou je zařazen dělicí tok (splitter), který umožňuje vést jen část odpařeného vzorku na kolonu (splitovací poměr, split ratio). Technika nástřiku bez splitu (splitless injection) se používá při stopové analýze nebo pro analýzu směsí látek, které se výrazně liší v bodu varu [58].

Kolona

V plynové chromatografii se používají náplňové nebo kapilární kolony.

Náplňové kolony jsou zpravidla kovové nebo skleněné trubice o vnitřním průměru 2-6 mm, dlouhé 1-5 m (delší kolony jsou svinuty). Při adsorpční chromatografii jsou naplněny tuhým sorbentem jako je silikagel (oxid křemičitý), alumina (oxid hlinitý) nebo grafitizované saze. Při rozdělovací chromatografii je nanesená vhodná netěkavá, teplotně stálá kapalina na nosič (např. silikagel) a to tak, aby na něm pevně ulpívala ve formě tenkého filmu. Molekuly nepohyblivé fáze mohou být na nosič vázány i kovalentní vazbou.

Kapilární kolony jsou skleněné, křemenné, plastové nebo kovové kapiláry, jejichž vnitřní stěny jsou potaženy stacionární fází. Další možností jsou kapiláry naplněné stacionární fází v celém svém objemu. Vnitřní průměr kapilár je 100-700 μm , délka kapilárních kolon se pohybuje v rozmezí 15 až 100 metrů. Stacionární fáze je zachycena na vnitřní stěně kapiláry (netvoří v trubici sloupec) [56].

Termostat

Termostat umožňuje udržení konstantní teploty kolony, případně injektoru a tvorbu teplotního programu pro gradientovou eluci. Teplo se ke kolonám přivádí vyhřívacím médii (plynem, kapalinou nebo tuhým látkou), případně odporovým drátem navinutým přímo na koloně. Vyžaduje se teplotní stabilita $\pm 0,1$ °C uvnitř termostatu; uváděna je možnost změny teploty v termostatu po ± 1 °C za zvolenou časovou jednotku a teplotní rozsah 450°C [58].

Detektor

Nosný plyn vystupující z kolony prochází detektorem, který reaguje na přítomnost analyzovaných složek. Jeho signál je zaznamenáván v závislosti na čase. Detektor by měl být schopen reagovat na co nejnižší koncentrace analytů, což znamená, že potřebujeme co nejnižší mez detekce. Velikost signálu má být přímo úměrná koncentraci složky v plynu. Dalším požadavkem je i selektivita pro stanovované látky. Podle dějů, které probíhají při detekci, je možno detektory rozdělit na nedestruktivní, v nichž se analyt procházející detektorem chemicky nemění a destruktivní, u kterých dochází k nevratným změnám analytu.

Nedestruktivní detektory:

- tepelně vodivostní detektor (TCD)
- detektor elektronového záchytu (ECD)
- argonový a heliový detektor (ArD, HeD)
- infračervený spektrometr (IRS);

Destruktivní detektory

- plamenový ionizační detektor (FID)
- plamenový termoionizační detektor (AFID, TID)
- hmotnostní spektrometr (MS).

Vyhodnocovací zařízení

Zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku – chromatogram a provádí její vyhodnocení [58].

2.5.5.2 Hmotnostní spektrometrie – MS (Mass spectrometry)

Hmotnostní spektrometrie je analytická technika, která převádí atomy a molekuly v analyzovaném vzorku na ionizovanou plynnou fázi a tyto ionizované částice separuje na základě jejich poměru hmotnosti a náboje – m/z [60]. Vzniklý záznam molekulárních a fragmentových iontů je charakteristický pro danou látku a poskytuje cenné informace o struktuře, molekulové hmotnosti nebo izotopickém zastoupení jednotlivých prvků.

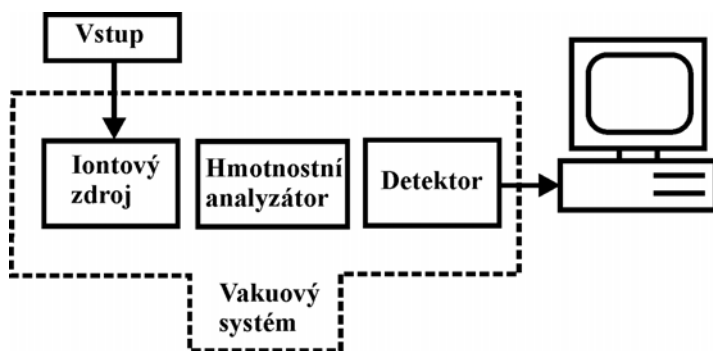
Je to metoda destruktivní, což znamená, že při ní dochází k nevratným změnám vzorku. Metodou MS je možné stanovit také látky, které se v analyzovaném materiálu vyskytují v pikogramových množstvích.

Instrumentace

Základní součásti běžného hmotnostního spektrometru jsou [56]:

- Iontový zdroj
- Hmotnostní analyzátor
- Detektor

Každý hmotnostní spektrometr má také vakuový systém, který udržuje v přístroji vysoké vakuum.



Obrázek 28. Schéma hmotnostního spektrometru.

Ionizace

Ionizace probíhá v části zvané iontový zdroj. Zde dochází ke fragmentaci molekul analytu.

Typy iontových zdrojů:

- Ionizace proudem elektronů (EI)
- Chemická ionizace (CI)
- Ionizace elektrickým polem (FI), desorpce elektrickým polem (FD)
- Ionizace bombardováním rychlými částicemi (FAB, SIMS)
- Desorpce laserem (LD)
- Ionizace desorpcí laserem v přítomnosti matrice (MALDI).

K nejpoužívanějším technikám, zejména ve spojení s plynovou chromatografií, patří ionizace proudem elektronů (EI) a chemická ionizace (CI) [61].

Ionizace proudem elektronů (EI)

Při ionizaci molekul proudem elektronů může vzniknout řada produktů. Z hlediska hmotnostní spektrometrie je však nejdůležitější oblast vzniku negativních iontů a pozitivních iontů. Nejběžnější metodou je metoda pozitivních iontů. K odtržení elektronu z molekuly a ke vzniku pozitivního iontu dojde, když je energie bombardujících elektronů rovna nebo vyšší než její ionizační potenciál. Protože pro většinu anorganických a organických molekul dosahuje pravděpodobnost ionizace maximální hodnoty kolem energie elektronů 70eV, mají vzniklé ionty značný přebytek energie a jen některé z nich jsou stabilní po dostatečně dlouhou dobu. Ionizací vzniklé primární ionty se mohou, především u polyatomických molekul, měnit dál. Následnými pochody může být fragmentace a jako druhý sekundární děj přesmyk. Fragmentace a přesmyky jsou proto příčinou složitosti hmotnostního spektra. Přinášejí informace, které mnohdy nelze jednoduše vyhodnotit a naopak potlačují informace, které mnohdy nutně potřebujeme, např. informace o hmotnostech primárně vzniklých iontů. Proto byly vyvinuty alternativní metody pro ionizaci vzorku [60, 61].

Chemická ionizace (CI)

Chemická ionizace využívá nepřímé ionizace molekul látky ionizovanými molekulami reakčního plynu. Reakčním plynem může být např. methan. Elektrony ionizují téměř výhradně reakční plyn, protože jeho zastoupení je při ionizaci až 1000krát vyšší než zastoupení sledované látky. Vytvořené ionty reakčního plynu následně ionizují molekuly zkoumané látky. Směs takto vzniklých iontů je obvyklým způsobem urychlována a analyzována. Ve srovnání s hmotnostními spektry, při kterých byla použita ionizace elektronovým paprskem, jsou odpovídající spektra při použití chemické ionizace podstatně jednodušší, protože mají většinou tak malou energii, že nepodléhají další fragmentaci [61].

Separace vzniklých iontů

Následná separace iontů probíhá v hmotnostním analyzátoru. Zde po ionizaci a urychlení dochází k rozdělení iontů podle jejich měrných nábojů (m/z). Všechny ionty o stejném měrném náboji pak putují do jediného ohniska, do detektoru.

Hmotnostní analyzátory mohou pracovat ve dvou základních módech – SCAN a SIM. Při SCAN módu jsou registrována hmotnostní spektra v nastaveném hmotnostním rozsahu; naproti tomu v SIM módu se sleduje intenzita jednoho nebo několika zvolených iontů v čase. Tohoto účelu lze dosáhnout několika způsoby, tj. několika druhy analyzátorů.

- Magnetický analyzátor (B)
- Kvadrupólový analyzátor (Q)
- Kvadrupólová iontová past (QIT)
- Separace podle doby letu (TOF)
- Iontová cyklotronová rezonance (ICR).

Ve spojení s plynovou chromatografií je často používaným typem kvadrupólový analyzátor (Q) a také separace podle doby letu (TOF) [56, 61].

Kvadrupólový analyzátor (Q)

Tento analyzátor je tvořen čtyřmi paralelními kovovými tyčemi, které jsou prostorově umístěny v rozích čtverce. Podstatou funkce je hyperbolické radiofrekvenční pole. Tyče jsou v diagonále navzájem spojeny a připojeny ke zdrojům stejnosměrného a radiofrekvenčního napětí. Pohyb iontů vstupujících do analyzátoru probíhá podél osy systému, ionty při pohybu příčně oscilují ve směru tyčí. Pokud je amplituda kmitů malá, ionty mohou projít přes systém tyčí, při větších oscilacích ionty mohou zasáhnout jednu z elektrod, kde jsou neutralizovány. Pouze ionty o zcela určitém měrném náboji m/z se vyhnou kolizi a dosáhnou detektoru. Tento typ analyzátoru má výhodu v tom, že signály mají při lineárním časovém rozvoji stejnou šířku, vzdálenost a analogický tvar (lineární hmotnostní stupnice).

Další výhodou je rychlost produkce celého hmotnostního spektra (ms) a schopnost pracovat kvalitně i při vyšších tlacích než u ostatních analyzátorů. Tyto vlastnosti jsou zejména vhodné pro jeho spojení s počítačem a s plynovým, případně s kapalinovým chromatografem [56, 61].

Separace podle doby letu (TOF)

Operační princip tohoto analyzátoru spočívá v měření času potřebného k tomu, aby se iont dostal z ionizační komory iontového zdroje k detektoru. Každý cyklus je zahájen pulsem elektronového paprsku, který generuje diskrétní iontový oblak; ten je vtažen do akcelerační sekce, kde je urychlen. Při akceleraci ionty získají stejnou kinetickou energii, mají ale rozdílné hmotnosti, a proto se budou lišit jejich rychlostí. Z akcelerační sekce jsou ionty vedeny do dlouhé (1 m) trubice, v níž není žádné pole. Zde dochází k separaci iontů podle jejich rozdílných rychlostí, takže k detektoru, který je situován na konci této trubice, dorazí dříve ionty lehčí než těžší [56, 61].

Detekce iontů

Iontové detektory převádějí proud dopadajících iontů na proud elektronů. Z detektorů používaných ke stanovení jednotlivých druhů iontů se nejčastěji používají detektory elektrické. Druhy detektorů [56, 61]:

- Faradayova klec
- Násobič sekundárních elektronů
- Detektor s konverzní dynodou a fotonásobičem
- Fotografická detekce
- Elektrooptická detekce.

Faradayova klec

Principem je malá kovová elektroda umístěná ve Faradayově kleci tak, že plocha dopadu je skloněna vzhledem k trajektorii iontů, aby odražené ionty nebo vyzářené sekundární elektrony nemohly uniknout z klece. Dopad iontů způsobí vyražení elektronu z povrchu. Elektron dopadá na anodu. Vzniklý elektrický proud je zesílen zesilovačem [56, 61].

Násobič sekundárních elektronů

Principem zesílení iontového proudu v elektronovém násobiči je využití sekundární emise elektronů. Proud iontů z hmotnostního separátoru dopadá na první, konverzní dynodu, která emituje elektrony v množství přímo úměrném počtu dopadajících iontů. Sekundární elektrony z konverzní dynody jsou urychleny a dopadají na druhou dynodu, kde po dopadu emitují další elektrony. Tento proces se opakuje na dalších (10 - 20) dynodách (kaskádový jev). Elektronový násobič vzhledem ke statistickému charakteru zesílení primárního signálu sice poskytuje v průměru o dva řády větší odezvu než Faradayova klec, jeho přesnost se však pohybuje v řádu desetin procent [56, 61].

Sběr dat

V zásadě existují tři režimy získávání dat:

- Mód kompletního spektra – SCAN
- Fragmentometrický mód – SIM, MIM
- Fragmentometrický MS-MS mód – MRM.

Mód kompletního spektra – SCAN

Zaznamenáván je veškerý signál získaný ve zvoleném rozsahu hodnot m/z . Hmotnostní spektrum zobrazuje relativní intenzity různých druhů iontů jako funkci m/z . Získané výsledky jsou v zásadě kvalitativní. Pro rychlou identifikaci struktury reprezentované získaným hmotnostním spektrem je možno využít počítačového porovnání s referenčními knihovny spekter [62].

Fragmentometrický mód – SIM, MIM

Monitorování vybraného iontu (single-ion monitoring – SIM); monitorování více vybraných iontů (multiple-ion monitoring – MIM). Zpracováván je pouze signál příslušející iontu o vybraném m/z , popřípadě několika vybraným iontům charakteristickým pro zkoušenou látku. Použijeme-li tento způsob sběru dat, především pro účely kvantitativní analýzy, je možno podstatně snížit detekční limit metody. Kvantitativní nebo semikvantitativní stanovení je možno provádět s použitím interních a externích standardů, např. deuterovaných standardů. Tento typ měření není možno provádět s TOF analyzátoři [62].

Fragmentometrický MS-MS mód – MRM

Multiple reaction monitoring – MRM; umožňuje specificky sledovat unimolekulární nebo bimolekulární rozpad iontů vybraného prekurzorového iontu, charakteristického pro analyzovanou látku. Díky vysoké selektivitě, specifičnosti a citlivosti je tento mód mimořádně vhodný pro kvantitativní studie s použitím vhodných vnitřních standardů, např. deuterovaných standardů. Tento druh analýz je možno provádět pouze na tandemových hmotnostních spektrometrech, přístrojích s iontovou pastí nebo ICR analyzátoři [62].

2.5.5.3 Spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC/MS)

Propojení těchto dvou technik výrazně přispělo k rozvoji hmotnostní spektrometrie. Plynová chromatografie zastává roli účinného separátoru a na ni navazující hmotnostní spektrometrie je vysoce citlivá a specifická detekce separovaných látek. Spojení GC/MS představuje nejefektivnější techniku identifikace neznámých složek ze směsí.

Pokud se použijí vhodné kapilární nebo mikronáplňové kolony, je možno konec kolony umístit přímo do prostoru iontového zdroje, a to bez nutnosti použití separátoru nosného plynu. Použijeme-li náplňovou kolonu, není možné přímé propojení, protože velké množství nosného plynu by porušilo vakuum v hmotnostním spektrometru. Proto je nutné zařadit mezi kolonu a iontový zdroj tzv. chromatografický vstup. Nejjednodušší spojení představuje dělič umístěný na výstupu z kolony, který dělí proud nosného plynu; další možností je použití molekulových separátorů. Molekulové separátory mají za úkol oddělit nosný plyn od eluované složky. Přitom je kladen důraz na to, aby ztráty složky při separaci byly co nejmenší. Existuje celá řada konstrukcí separátorů, běžně však jsou používány tři typy: tryskový, solvatačně difúzní a efúzní.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Používané laboratorní vybavení a chemikálie

3.1.1 Používané přístroje, zařízení a software

Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Plynový chromatograf Hewlett-Packard 6890N GC (Agilent, USA)

- použitá kolona: J&W Scie 122-5522; DB-5MS, Capillary – 20,0 m x 0,18 μm x 180 μm
Hmotnostní detektor MSD 5973N (Agilent, USA)

Přístroje a zařízení

Analytické váhy AB265-S (Mettler Toledo, Švýcarsko)

Analytické váhy PM400 (Mettler, Švýcarsko)

Míchačka RCT basic (Kika Werke, Německo)

Termostat ETS-D4 Fuzzy (Kika Werke, Německo)

Držák pro SPME, vlákno PDMS/DVB - 65 μm (Supelco, USA)

Software

Enhanced ChemStation MSD Productivity, Software G1701DA Version D.00.00 (Agilent Technologies, USA)

Enhanced ChemStation MSD Data Analysis, Software G1701DA Version D.00.00.38 (19.11.2001, Agilent Technologies, USA)

Microsoft® Word 2002, Microsoft Corporation (USA)

Microsoft® Excel 2002, Microsoft Corporation (USA)

3.1.2 Standardy

Tonalid (AHTN):

c = 10 ng/ μl in Cyclohexane; (Dr. Ehrenstorfer, GmbH, Augsburg, Německo)

Musk xylen (MK):

c = 10 ng/ μl in Cyclohexane; (Dr. Ehrenstorfer, GmbH, Augsburg, Německo)

Musk keton (MX):

c = 10 ng/ μl in Cyclohexane; (Dr. Ehrenstorfer, GmbH, Augsburg, Německo)

3.1.3 Chemikálie

Rozpouštědla

Cyklohexan (Merck, Německo)

Aceton (Merck, Německo)

Ethanol (Merck, Německo)

Technické plyny

Helium 6,0 (Messer, ČR)

Dusík 5,0 (Messer, ČR)

Ostatní

Kyselina chromsírová [vyrobena v laboratořích VFU z kyseliny sírové (Merck, Německo) a 10% roztoku dichromanu draselného (Merck, Německo)]

Destilovaná voda

3.2 Pracovní postupy – příprava roztoků standardů, kalibrace

3.2.1 Příprava zásobních a pracovních směsných roztoků standardů

Do odměrné baňky o objemu 10 ml byl napipetován 1 ml acetonu, Hamiltonovou stříkačkou o maximálním objemu 10 µl byly do baňky napipetovány standardy (po 10 µl od každého) a baňka byla destilovanou vodou doplněna po rysku, uzavřena zátkou a promíchána. Tímto postupem byl připraven roztok o hmotnostní koncentraci 10 ng/ml.

3.2.2 Příprava jednotlivých zásobních a pracovních roztoků standardů

Do odměrné baňky o objemu 10 ml byl napipetován 1 ml acetonu, Hamiltonovou stříkačkou o maximálním objemu 10 µl bylo do baňky napipetováno 10 µl standardu a baňka byla destilovanou vodou doplněna po rysku, uzavřena zátkou a promíchána. Tímto postupem byl připraven roztok o hmotnostní koncentraci 10 ng/ml.

3.2.3 Příprava kalibračních roztoků standardů

3.2.3.1 Kalibrace pro metodu SPME – Head Space

Kalibrační roztoky byly připravovány do odměrných baněk o objemu 10 ml. Bylo připraveno celkem 6 roztoků o známé koncentraci. Do odměrné baňky byl napipetován 1 ml acetonu. Roztoky o koncentracích 5; 4 a 2,5 ng/ml byly připraveny přímo ze standardů, roztoky o koncentracích 1; 0,1 a 0,05 ng/ml byly připraveny rozředěním zásobního roztoku. Baňky byly doplněny destilovanou vodou. Byly připravovány směsné kalibrační roztoky.

Tabulka 19. Příprava kalibračních roztoků standardů AHTN, MX a MK

Koncentrace kalibračního roztoku (ng/ml)	5	4	2,5	1	0,1	0,05
Aceton (ml)	1	1	1	1	1	1
Standard c = 10 ng/µl (µl)	5	4	2,5	-	-	-
Roztok standardu c = 10 ng/ml (µl)	-	-	-	1000	100	50

3.2.3.2 Kalibrace pro metodu SPME – Direct immersing

Kalibrační roztoky byly připravovány do odměrných baněk o objemu 20 ml. Bylo připraveno celkem pět roztoků o známé koncentraci. Do odměrné baňky byl napipetován 1 ml acetonu. Všechny roztoky byly připraveny rozředěním zásobního roztoku. Baňky byly doplněny destilovanou vodou. Byly připravovány směsné kalibrační roztoky.

Tabulka 20. Příprava kalibračních roztoků standardů AHTN, MX a MK

Koncentrace kalibračního roztoku (ng/ml)	3	1,5	0,75	0,1	0,01
Aceton (ml)	1	1	1	1	1
Roztok standardu c = 10 ng/ml (ml)	6	3	1,5	0,2	0,1

3.2.3.3 Matriční kalibrace pro metodu SPME – Head Space

Matriční kalibrační roztoky byly připravovány do odměrných baněk o objemu 10 ml. Bylo připraveno celkem šest roztoků. Do odměrné baňky byl napipetován 1 ml acetonu. Roztoky o koncentracích 5; 4 a 2,5 ng/ml byly připraveny přímo ze standardů, roztoky o koncentracích 1; 0,1 a 0,05 ng/ml byly připraveny rozředěním zásobního roztoku. Baňky byly doplněny odpadní vodou z přítoku čističky odpadních vod VFU. Byly připravovány směsné kalibrační roztoky.

Tabulka 21. Příprava matričních kalibračních roztoků standardů AHTN, MX a MK

Koncentrace kalibračního roztoku (ng/ml)	5	4	2,5	1	0,1	0,05
Aceton (ml)	1	1	1	1	1	1
Standard c = 10 ng/μl (μl)	5	4	2,5	-	-	-
Roztok standardu c = 10 ng/ml (μl)	-	-	-	1000	100	50

3.2.3.4 Matriční kalibrace pro metodu SPME – Direct immersing

Matriční kalibrační roztoky byly připravovány do odměrných baněk o objemu 20 ml. Bylo připraveno celkem 6 roztoků. Do odměrné baňky byl napipetován 1 ml acetonu. Všechny roztoky byly připraveny rozředěním zásobního roztoku. Baňky byly doplněny destilovanou vodou. Byly připravovány směsné kalibrační roztoky.

Tabulka 22. Příprava matričních kalibračních roztoků standardů AHTN, MX a MK

Koncentrace kalibračního roztoku (ng/ml)	3	1,5	0,75	0,3	0,1	0,01
Aceton (ml)	1	1	1	1	1	1
Roztok standardu c = 10 ng/ml (ml)	6	3	1,5	0,6	0,2	0,1

3.3 Pracovní postupy – optimalizace SPME

3.3.1.1 Metoda Head Space

V minulých letech již byly na FCH VUT prováděny podobně zaměřené diplomové práce, proto jsem vycházela z poznatků v nich ověřených. Metodou SPME Head Space (sorpcí z prostoru nad hladinou vzorku) byly stanovovány musk sloučeniny z odpadní vody [45]. V této citované práci již byla provedena optimalizace metody, a proto pro stanovení metodou HS byly podmínky optimalizace převzaty.

Podmínky mikroextrakce tuhou fází SPME – Head Space:

Vialka: V = 22 ml

Analyzovaný objem kalibračních roztoků, vzorků: V = 10 ml

Čas ustavení rovnováhy: t = 5 min

Doba sorpce na vlákno – expoziční čas: $t = 20$ min
Použité vlákno: kombinované PDMS/DVB
Teplota: $t = 80$ °C
Míchání – otáčky: 800 ot./min

3.3.1.2 Metoda Direct immersing

Druhou možností je sorpce musk sloučenin zanořením vlákna přímo do vzorku odpadní vody. Tento způsob dosud prováděn nebyl, a proto bylo nezbytné tuto metodu optimalizovat. Především bylo nutné zjistit vhodnou teplotu sorpce a dobu ustavení rovnováhy. Doba sorpce byla převzata z metody HS.

Podmínky mikroextrakce tuhou fází SPME – Direct immersing:

Vialka: $V = 22$ ml
Analyzovaný objem kalibračních roztoků, vzorků: $V = 20$ ml
Čas ustavení rovnováhy: $t = 30$ min
Doba sorpce na vlákno – expoziční čas: $t = 20$ min
Použité vlákno: kombinované PDMS/DVB
Teplota: $t = 80$ °C
Míchání – otáčky: 800 ot./min

3.4 Pracovní postupy – manipulace a zpracování reálných vzorků

3.4.1 Vzorkování

Vzorky odpadní vody byly odebírány do tmavých skleněných láhví o objemu 0,5 l; při odběru byly naplněny po okraj a pevně uzavřeny víčkem. Vzorky byly dopraveny do laboratoře a byly buď ihned zpracovány, nebo uchovávány v ledničce při teplotě do 4 °C. Celkově bylo analyzováno 34 vzorků vod.

3.4.1.1 Místa odběru vzorů odpadní vody

Čistírna odpadních vod Brno-Modřice

Čistírna odpadních vod v Modřicích slouží k čištění odpadních vod přiváděných systémem kanalizačních stok z města Brna a ve stále větší míře prostřednictvím soustavy čerpacích stanic i z širokého okolí Brna. V současné době jsou kromě Brna napojeny na ČOV ještě města Kuřim, a Modřice, obce Želešice, Česká u Brna., Šlapanice, Šlapanice-Bedřichovice, Ostropovice, Moravské Knínice, Lipůvku, Podolí, Ponětovice a Rozdrojovice [53].

Čistírna odpadních vod na Veterinární a farmaceutické univerzitě Brno

Malá čistírna umístěná na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně slouží k úpravě odpadní vody vyprodukované pouze univerzitou. Skládá se ze dvou chemických a jedné biologické jednotky [45].

První série vzorků:

7 vzorků z přítoku a 7 vzorků z odtoku z čistírny odpadních vod situované v areálu VFU Brno; odebírány byly vždy ráno v období 8. – 14. 3. 2009. Tyto vzorky byly zpracovány metodou Head Space.

Druhá série vzorků:

5 vzorků z přítoku a 5 vzorků z odtoku z velkokapacitní městské čistírny odpadních vod v Brně, Modřicích; odebírány byly vždy ráno v období 23. – 27. 3. 2009.

Tyto vzorky byly zpracovány metodou Direct immersing.

Třetí série vzorků:

5 vzorků z přítoku a 5 vzorků z odtoku z čistírny odpadních vod situované v areálu VFU Brno; odebírány byly vždy ráno v období 13. – 17. 4. 2009.

Tyto vzorky byly zpracovány metodou Direct immersing.

3.4.2 Postup SPME

3.4.2.1 Head Space

Do vialky o objemu 22 ml byl napipetován 1 ml acetonu, 9 ml promíchaného vzorku odpadní vody, vloženo míchátko, vialka uzavřena septem a víčkem. Za stálého míchání byl vzorek 5 minut ustalován na teplotu 80 °C, poté následovala (za stálého míchání) sorpce analytů na vlákno SPME z prostoru nad hladinou vzorku, a to po dobu 20 minut. Po ukončení sorpce byla provedena analýza plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí.

3.4.2.2 Direct immersing

Do vialky o objemu 22 ml byl napipetován 1 ml acetonu, 19 ml promíchaného vzorku odpadní vody, vloženo míchátko, vialka uzavřena septem a víčkem. Za stálého míchání byl vzorek 30 min ustalován na teplotu 80 °C, poté následovala (za stálého míchání) sorpce analytů na vlákno SPME přímo ze vzorku, a to po dobu 20 minut. Po ukončení sorpce byla provedena analýza plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí.

3.5 Pracovní postupy – identifikace a kvantifikace analytů

3.5.1 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Identifikace a kvantifikace byla prováděna plynovou chromatografií ve spojení s hmotnostní detekcí (GC/MS).

Plynový chromatograf byl vybaven kolonou se zakotvenou nepolární stacionární fází DB-5MS poly(dimethylsiloxo)poly[1,4-bis(dimethylsiloxo)phenylene]siloxane.

Separace složek na této koloně je uskutečňována zejména podle teploty varu složek. Tento typ kolony patří k nejpoužívanějším v environmentální analýze.

Hmotnostní spektrometr byl vybaven iontovým zdrojem s elektroionizací (EI) a kvadrupólovým (Q) hmotnostním analyzátozem ionizovaných částic. Měření probíhalo v SIM módu (viz. kapitola 2.5.5.2). Tento režim je pro ultrastopovou analýzu nejvhodnější, protože umožňuje dosáhnout nízkých detekčních limitů a vysoké selektivity.

3.5.1.1 Nastavení přístroje

- Doba analýzy: 24 minut
- Čas desorpce: 3 minuty
- Průtok nosného plynu: 0,8 ml/min
- Lineární rychlost nosného plynu: 36 cm/sec
- Injektor: Splitless

- Teplota injektoru: 250°C
- Tlak a průtok nosného plynu v injektoru: 116 kPa, 28,5 ml/min
- Průtok nosného plynu v injektoru po nástřiku: 15 ml/min
- Teplota detektoru: 280°C

Tabulka 23. Nastavení teplotního programu GC/MS

Rampa (°C/min)	Teplota (°C)	Drženo (min)
-	50	3
15	170	0
10	280	2

3.6 Pracovní postupy – identifikace a kvantifikace analytů

Identifikace analytů byla provedena pomocí konfirmačních iontů a retenčních časů standardů. Pro kvantifikaci bylo možno použít dva způsoby, a to metodu externího standardu, neboli absolutní kalibraci a metodu standardního přídávku.

3.6.1 Metoda externího přídávku – metoda absolutní kalibrace

Byla proměřena řada kalibračních standardů o známé koncentraci a do grafu byla vynesena závislost ploch píků na koncentracích $A = f(c)$. Koncentrace reálných vzorků pak byly vypočítány z parametrů rovnice kalibrace, která byla zjištěna lineární regresí.

3.6.2 Metoda standardního přídávku

Při této metodě byly roztoky standardů analyzovaných látek přidávány přímo ke vzorku a analyzovány současně. Nejdříve byl proměřen samotný vzorek, z kalibrace byla odečtena orientační koncentrace sledovaného analytu ve vzorku a poté bylo do vialky přidáno takové množství standardu, které by představovalo teoretický nárůst signálu o 20 – 25 %.

Reálná koncentrace analytů ve vzorku byla spočítána podle vzorce:

$$c_x = \frac{A_x}{A_{x+s} - A_x} c_s$$

Výpočet:

Rovnice 1: $A_x = k \cdot c_x$

Rovnice 2: $A_{x+s} = k \cdot (c_x + c_s)$

=> $A_{x+s} - A_x = k \cdot c_s$; vyjádření k : $\frac{A_{x+s} - A_x}{c_s} = k$;

dosazení do Rovnice 1: $A_x = \frac{A_{x+s} - A_x}{c_s} c_x$; vyjádření c_x : $c_x = \frac{A_x}{A_{x+s} - A_x} c_s$

c_x – neznámá koncentrace sledované látky v roztoku

c_s – koncentrace přídávku standardu vztažená na objem vzorku

$c_x + c_s$ – celková koncentrace v roztoku s přídávkem

A_x – signál roztoku vzorku

A_{x+s} – celkový signál roztoku s přídávkem

k – konstanta úměrnost

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Optimalizace metody SPME – Direct immersing

Při optimalizování metody sorpce přímo z kapalného vzorku odpadní vody bylo nutno optimalizovat rovněž podmínky sorpce na vlákno SPME. Optimalizace částečně vycházela z podmínek sorpce Head Space. Bylo zjišťováno, za kterých podmínek je dosaženo maximálních výtěžků. Nejdůležitějším krokem byla optimalizace teploty sorpce. Obecně bývá optimální teplota u sorpce přímo z vody nižší, než u sorpce analytů z prostoru nad hladinou vzorku [54]. Dále bylo nutno zjistit optimální čas ustavení rovnováhy před sorpcí.

Optimalizované podmínky mikroextrakce tuhou fází SPME – Direct immersing:

Vialka: V = 22 ml

Analyzovaný objem kalibračních roztoků, vzorků: V = 20 ml

Čas ustavení rovnováhy: t = 30 min

Doba sorpce na vlákno – expoziční čas: t = 20 min

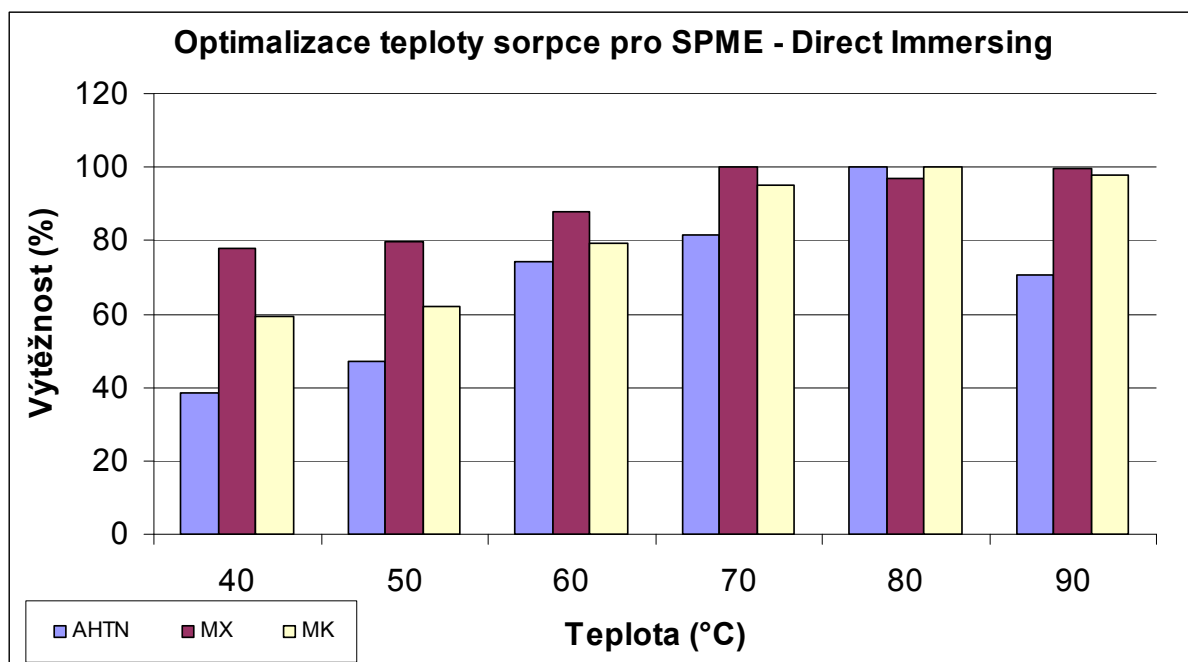
Použité vlákno: kombinované PDMS/DVB

Teplota: t = 80 °C

Míchání – otáčky: 800 ot./min.

4.1.1 Optimalizace teploty sorpce

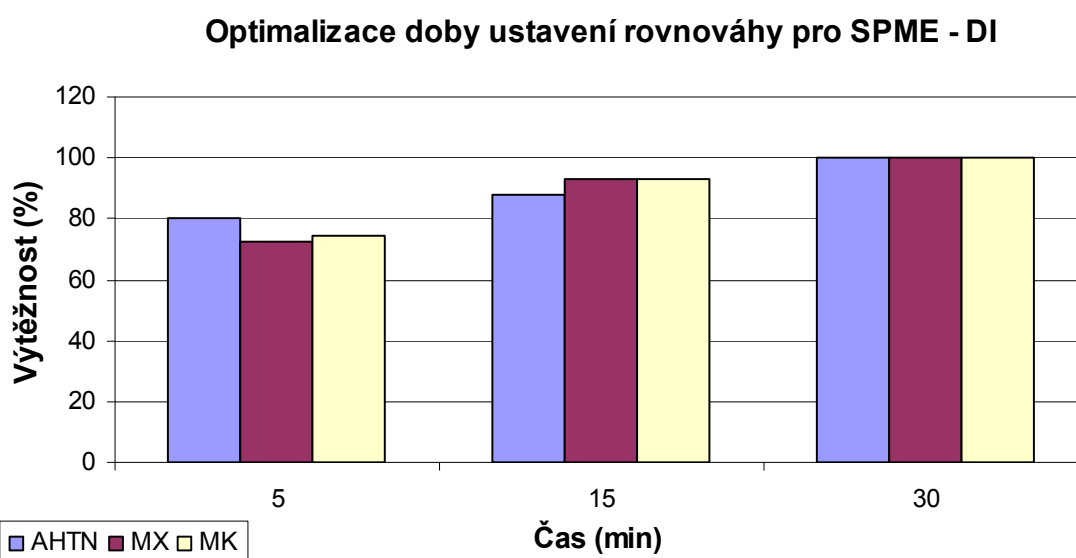
Optimalizace byla prováděna s reálným vzorkem odpadní vody z přítoku ČOV. Reálný vzorek byl zvolen z důvodu vlivu matričních efektů, které mohou ovlivňovat průběh celé analýzy. Při optimalizaci teploty sorpce se ukázalo, že obecné pravidlo zde neplatí. Tentýž vzorek odpadní vody byl proměřen při teplotách 40, 50, 60, 70, 80 a 90 °C. Na základě hodnot výtěžností vypočtených pro jednotlivé musk sloučeniny bylo zjištěno, že optimální teplota sorpce je 80 °C. Z Grafu 1. je patrné, že maximální výtěžnosti bylo dosaženo při této teplotě. Je zde pozorovatelný také vliv fyzikálně chemických vlastností jednotlivých musk sloučenin. Pro MX a MK byla výtěžnost téměř konstantní od 70 °C; patrně proto, že tyto dvě látky mají podobné tenze nasycených par. U AHTN došlo k výraznému maximu při teplotě 80 °C. Tato látka je mnohem těkavější než předchozí dvě, a proto pravděpodobně došlo při teplotě 90 °C ke ztrátám. Při této teplotě již docházelo k velkému tlaku plynné fáze nad hladinou vzorku; díky vyšší těkavosti přešel větší podíl analytu do plynné fáze. Přetlak ve vialce způsobil únik analytů přes otvor vzniklý po vpichu jehly do septa.



Graf 1. Procentuální výtěžnost sledovaných analytů v závislosti na teplotě.

4.1.2 Optimalizace doby ustavení rovnováhy

V tomto bodě se podmínky sorpce probíhající přímo z vody velmi liší. Bylo zjištěno, že výtěžnost se zvyšuje s prodlužujícím se časem ustálení. Byly provedeny analýzy v různých časových horizontech; po čas ustálení 5, 15 a 30 min před sorpcí. Delší časový úsek nebyl testován z důvodu časové náročnosti. Doba ustavení rovnováhy při SPME by se proto měla pohybovat v rozmezí 2 – 30 min, což bylo potvrzeno také údaji z literatury [63]. Z Grafu 2. je patrné, že výtěžnost stoupá s prodlužujícím se časem ustalování rovnováhy před sorpcí.

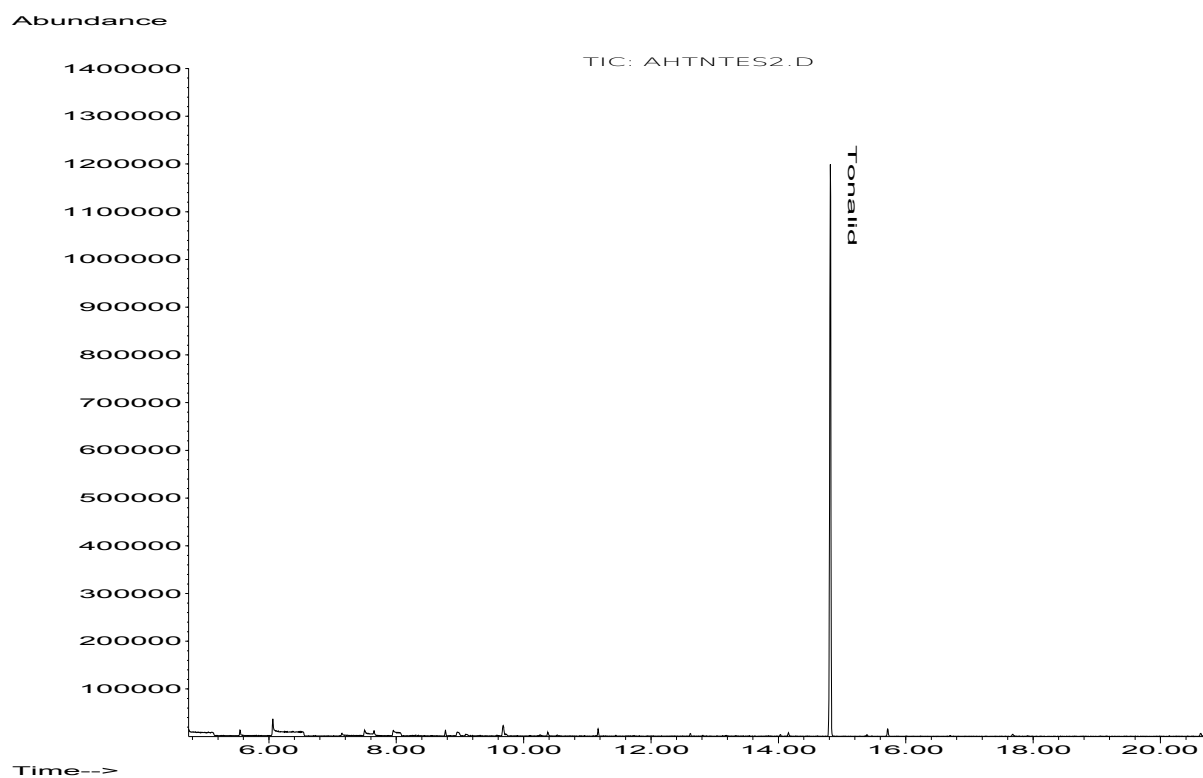


Graf 2. Procentuální výtěžnost sledovaných analytů v závislosti na době ustavení rovnováhy.

4.2 Identifikace analytů

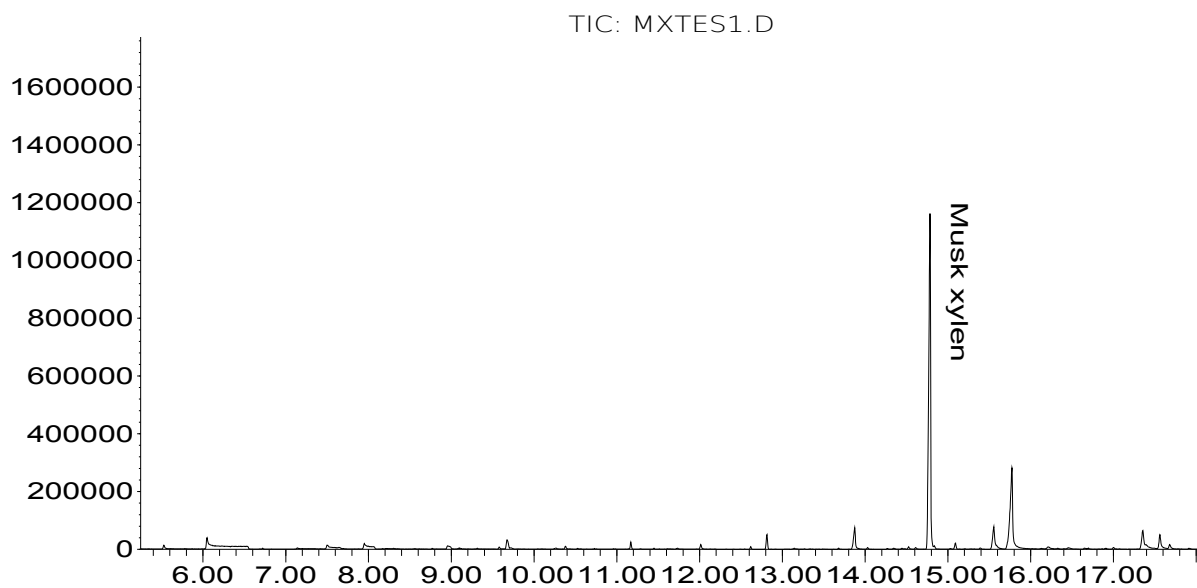
4.2.1 Měření v režimu SCAN

Z dostupné literatury byly nejprve zjištěny kvantifikační ionty sledovaných analytů [6, 18]. Byly proměřeny zásobní roztoky standardů (příprava viz. kapitola 3.2.2) v režimu SCAN. Chromatogramy Tonalidu, Musk xyleny a Musk ketonu jsou prezentovány na Obrázcích 29 – 31. Provedené experimenty rovněž umožnily získat hmotnostní spektra sledovaných analytů (Obrázky 32 – 34).



Obrázek 29. Chromatogram Tonalidu.

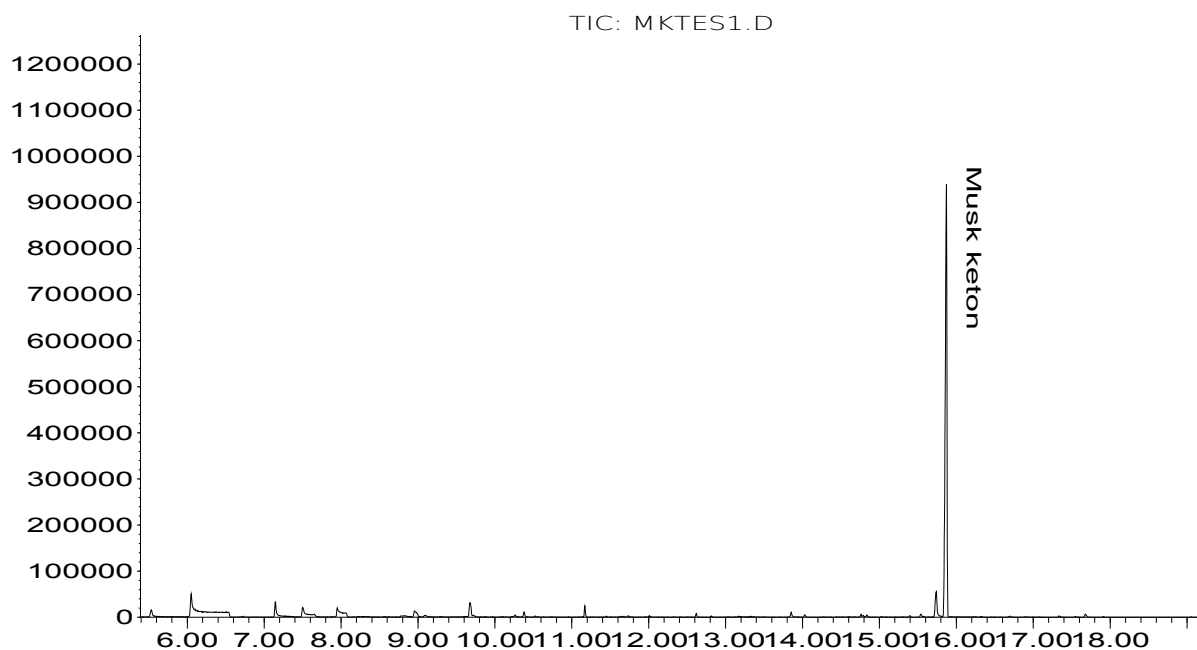
Abundance



Time-->

Obrázek 30. Chromatogram Musk xylenu

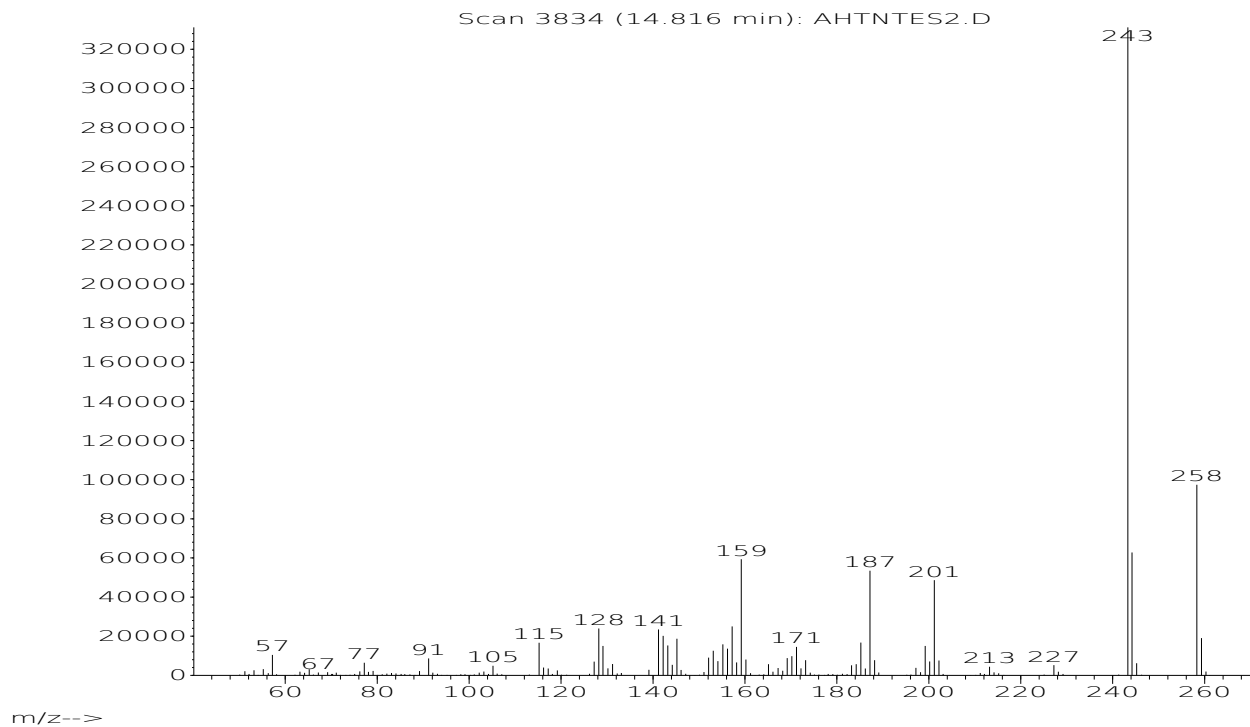
Abundance



Time-->

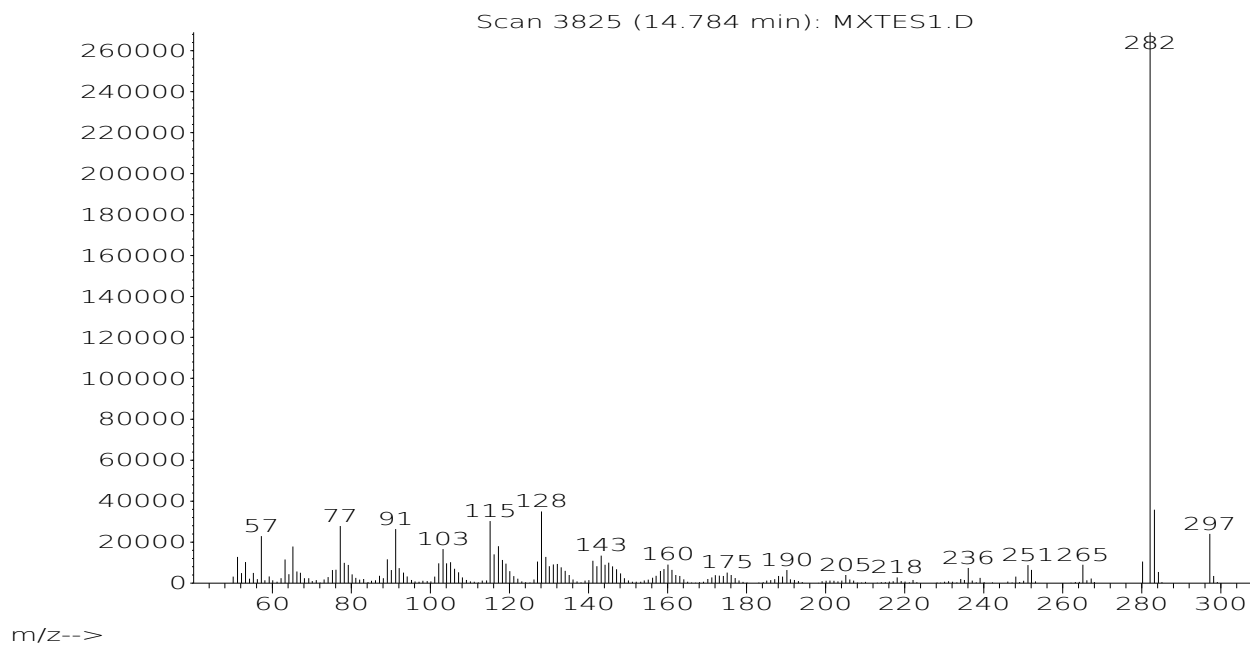
Obrázek 31. Chromatogram Musk ketonu

Abundance

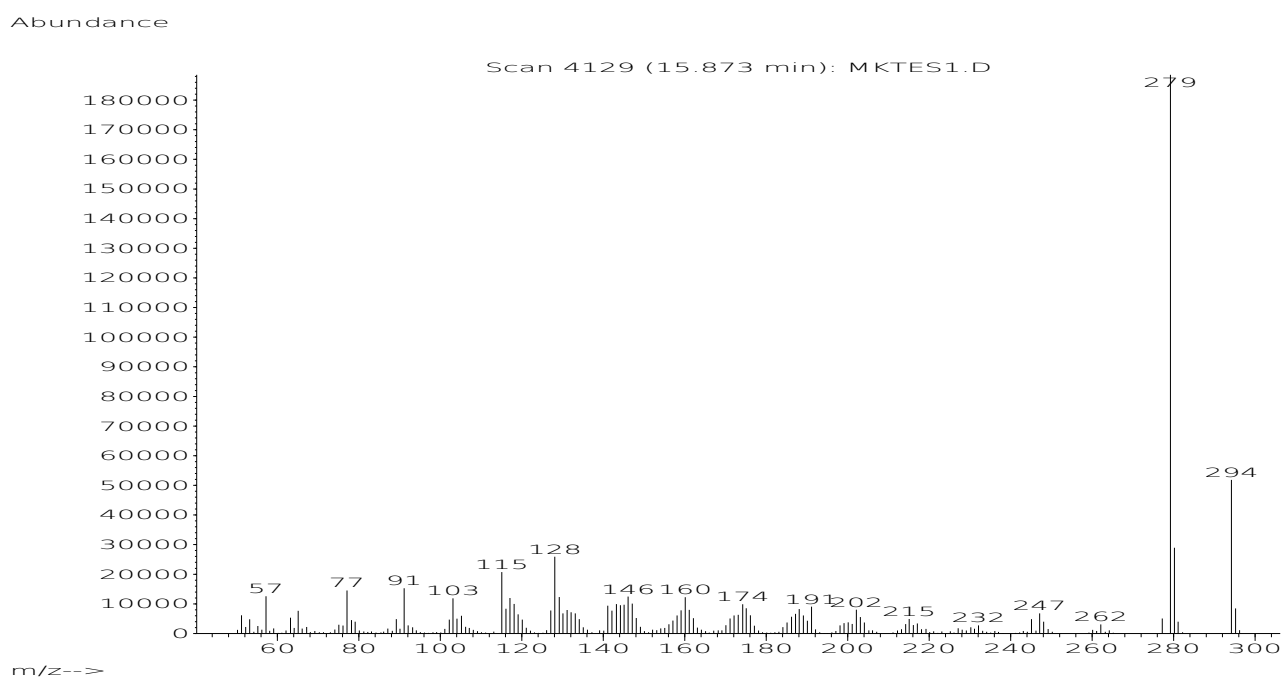


Obrázek 32. Hmotnostní spektrum Tonalidu

Abundance



Obrázek 33. Hmotnostní spektrum Musk xylenu



Obrázek 34. Hmotnostní spektrum Musk ketonu

Současně byly odečteny retenční časy jednotlivých musk sloučenin (Tabulka 24.). Dále byla na podkladě výstupů z těchto experimentů ověřena shodnost kvantifikačních iontů sledovaných musk sloučenin s literaturou a byly získány další tzv. identifikační ionty (viz. Tabulka 25). Jako identifikační (konfirmační) ionty jsou obvykle brány ty, které mají v hmotnostním spektru největší intenzitu (velikost).

Tabulka 24. Retenční časy sledovaných analytů

Musk sloučenina	Retenční čas (min)
Tonalid	14,816
Musk xylen	14,784
Musk keton	15,873

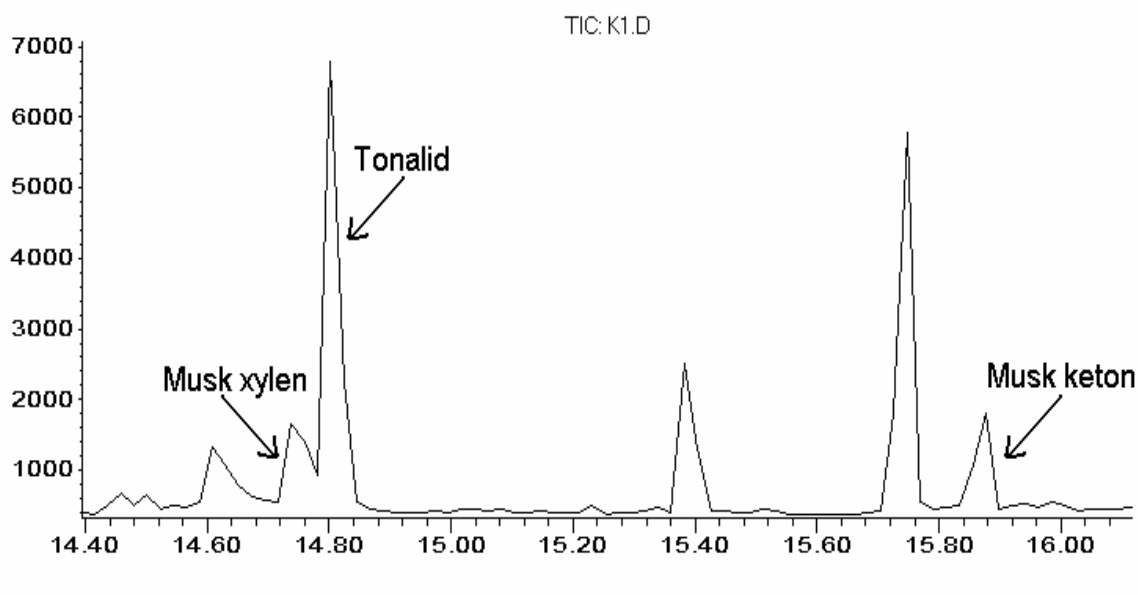
Tabulka 25. Přehled identifikačních a kvantifikačních iontů sledovaných analytů

Musk sloučenina	Kvantifikační ion (m/z)	Identifikační ionty (m/z)
Tonalid	243	159, 187, 243
Musk xylen	282	282, 283, 297
Musk keton	279	279, 280, 294

4.2.2 Měření v režimu SIM

Pro získání přesnějších údajů byla provedena analýza směsného roztoku standardu o nižší koncentraci 0,1 ng/ml (příprava viz. kapitola 3.2.3.1) v režimu SIM. Zde již byly monitorovány a zpracovávány pouze signály příslušející iontům o vybraných hodnotách m/z (Obrázek 35). Rovněž zde bylo ověřeno, že v případě analyzování směsi látek nedošlo ke změnám retenčních časů. Z časové osy je zřejmé, že retenční časy souhlasí.

Abundance



Time-->

Obrázek 35. Chromatogram roztoku směsného standardu v režimu SIM.

4.3 Kvantifikace analytů

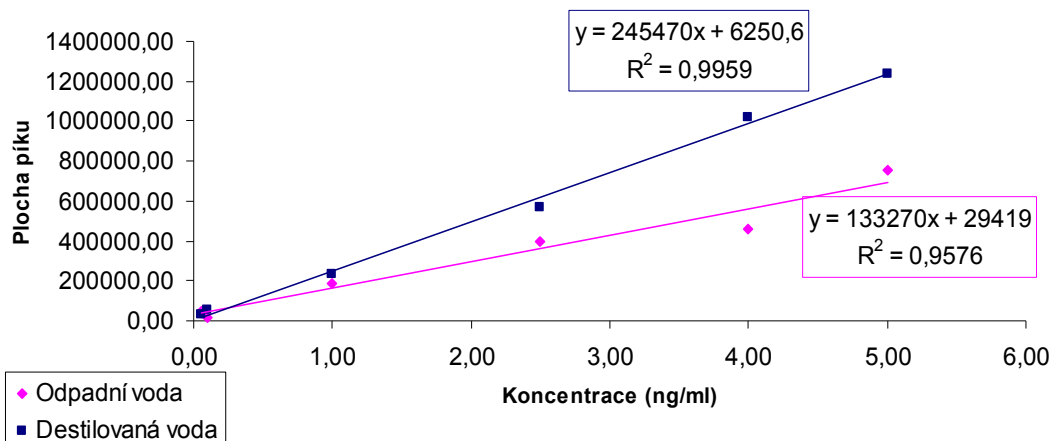
Všechna měření probíhala v módu SIM. Kvantifikace byla prováděna rozdílným způsobem u metody Head Space a u metody Direct immersing. Veškeré výpočty byly prováděny v programu MS Excel.

4.3.1 Kvantifikace použitá při metodě SPME – Head Space

Vzorky první série měření (viz. kapitola 3.4.1) byly kvantifikovány metodou externího přidavku – metodou absolutní kalibrace. Bylo proměřeno šest kalibračních roztoků standardů o vzrůstající koncentraci (příprava viz. kapitola 3.2.3.1) a do grafu byla vynesena závislost ploch píků na koncentracích $A = f(c)$. Linearita kalibrační křivky byla hodnocena na základě koeficientu determinace R^2 , který se u všech analytů pohyboval v rozmezí 0,986 – 0,996. Koncentrace reálných vzorků pak byly vypočítány z parametrů rovnice kalibrace, která byla zjištěna lineární regrese (Graf 3 – 5).

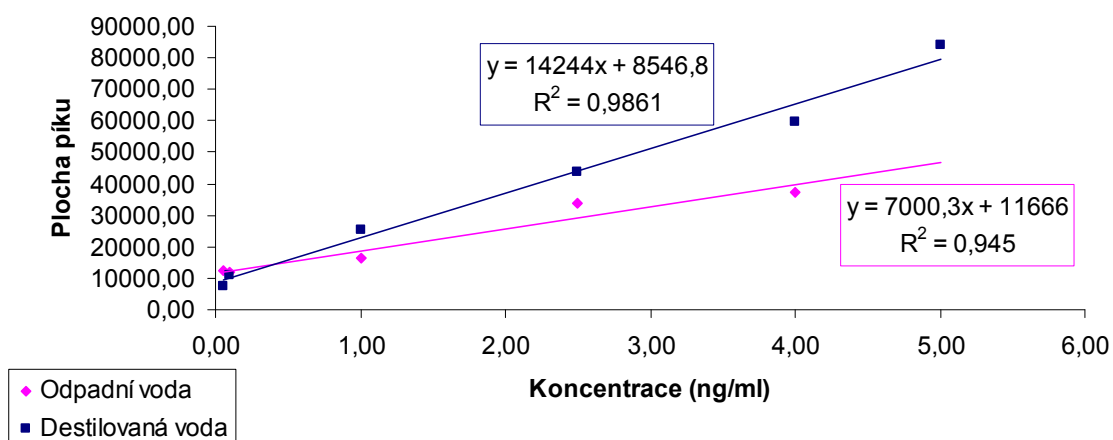
Pro názornost a porovnání vlivu matričních efektů byla stejným způsobem zhotovena matriční kalibrace (příprava roztoků viz. kapitola 3.2.3.3).

AHTN - Kalibrační křivky - Head Space



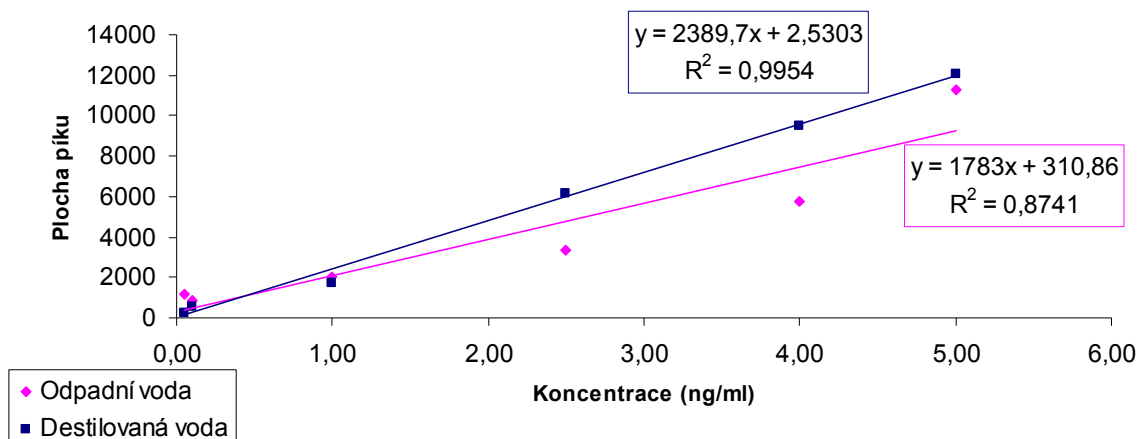
Graf 3. Kalibrace tonalidu z destilované vody a matriční kalibrace z odpadní vody.

MX - Kalibrační křivky - Head Space



Graf 4. Kalibrace musk xylenu z destilované vody a matriční kalibrace z odpadní vody.

MK - Kalibrační křivky - Head Space



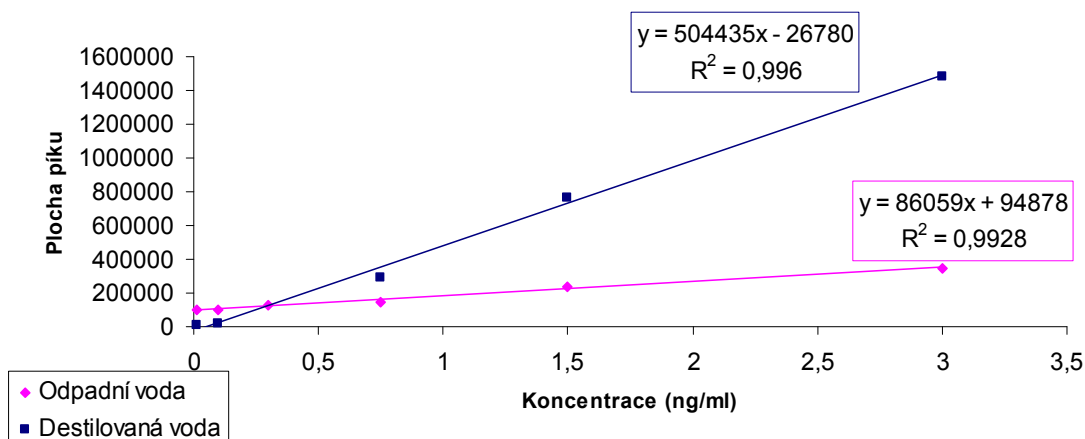
Graf 5. Kalibrace musk ketonu z destilované vody a matriční kalibrace z odpadní vody.

4.3.2 Kvantifikace použitá při metodě SPME – Direct immersing

Vzorky druhé a třetí série byly kvantifikovány metodou standardního přídavku. Také při této metodě musela být nejprve zhotovena kalibrace (přípravy vzorků viz. 3.2.3.2 a 3.2.3.4). Kalibrace (Graf 6 – 8) byly zhotoveny stejným způsobem jako v kapitole 4.3.1. Koeficient determinace pro kalibraci z destilované vody R^2 se nacházel v rozmezí 0,996 – 0,998. Při této metodě byly roztoky standardů analyzovaných látek přidávány přímo ke vzorku a analyzovány současně. Nejdříve byl proměřen samotný vzorek, z kalibrace byla odečtena orientační koncentrace sledovaného analytu ve vzorku a poté bylo do vialky přidáno takové množství standardu, které by představovalo teoretický nárůst signálu o 20 – 25 %. Reálná koncentrace analytů ve vzorku byla spočítána podle vzorce:

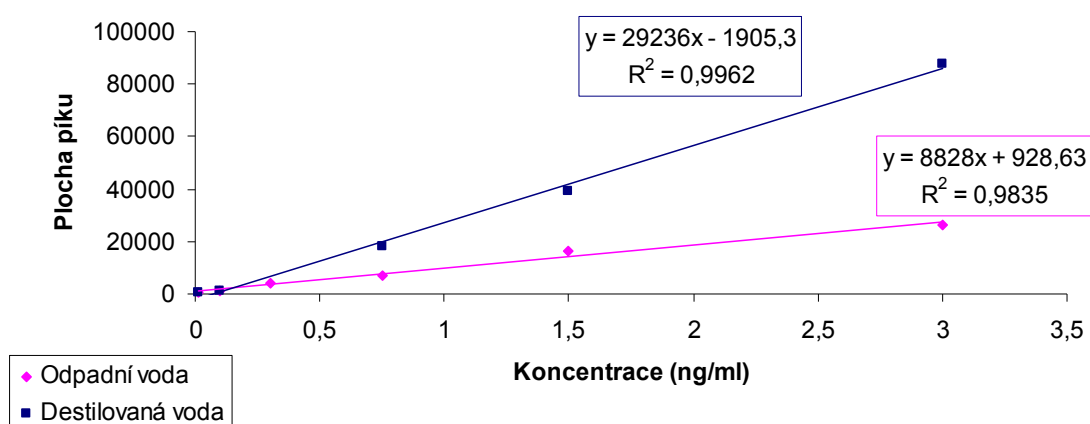
$$c_x = \frac{A_x}{A_{x+s} - A_x} c_s$$

AHTN - Kalibrační křivky - Direct Immersing



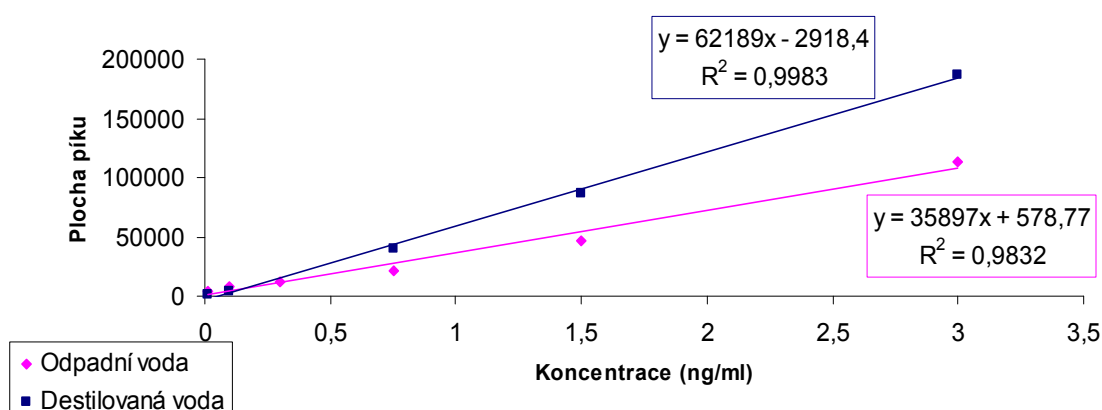
Graf 6. Kalibrace tonalidu z destilované vody a matriční kalibrace z odpadní vody

MX - Kalibrační křivky - Direct Immersing



Graf 7. Kalibrace musk xylenu z destilované vody a matriční kalibrace z odpadní vody.

MK - Kalibrační křivky - Direct Immersing



Graf 8. Kalibrace musk ketonu z destilované vody a matriční kalibrace z odpadní vody.

4.3.3 Stanovení meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ) použitých metod

Pro stanovení meze detekce existuje několik metod stanovení. Cílem všech postupů je určení statisticky nejistého signálu vztaženého buď na velikost šumu, nebo na nejistotu kalibrační křivky. Mez detekce – limit of detection (LOD) – odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu na základní linii. Mez stanovitelnosti – limit of quantification (LOQ) – odpovídá koncentraci, při které je přesnost stanovení taková, že dovoluje kvantitativní vyhodnocení. U separačních metodách se mez detekce vesměs vyjadřuje jako trojnásobek šumu základní linie a mez stanovitelnosti jako desetinásobek šumu základní linie:

$$LOD = \frac{3 \cdot h_n}{m}$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot h_n}{m}$$

kde h_n je šum na základní linii a m je směrnice kalibrační křivky.

Zpravidla se tento šum odečítá v blízkosti píku analytu. Šum je nutné odečítat v přítomnosti reálné matrice, protože v případě použití analytů v čistém rozpouštědle by byly hodnoty LOD a LOQ značně zkreslené [64].

Hodnoty LOD a LOQ uvedené v tabulce byly vypočítány podle výše uvedených vzorců (Tabulka 26).

Tabulka 26. Hodnoty meze detekce a stanovitelnosti pro metodu HS a DI

	Head Space		Direct immersing	
	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
AHTN	0,005	0,016	0,002	0,007
MX	0,098	0,329	0,032	0,106
MK	0,089	0,298	0,006	0,019

4.4 Výsledky měření reálných vzorků

Po dobu třech týdnů byla sledována množství vybraných musk sloučenin v odpadních vodách odebíraných ze dvou čistíren odpadních vod, a to na přítoku a odtoku.

Musk sloučeniny byly z reálných vzorků odpadní vody extrahovány sorpcí na vlákno SPME a poté byly stanovovány na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí.

4.4.1 Shrnutí naměřených dat

4.4.1.1 První série vzorků 8.3. – 14.3. 2009

První série vzorků byla odebírána a stanovována v období od 8.3. – 14.3. 2009. Každé ráno byly odebrány vzorky odpadní vody z přítoku a odtoku z ČOV na VFU Brno. Tyto vzorky byly zpracovány metodou SPME – HS a vyhodnocovány metodou externího standardu, tj. pomocí kalibrační křivky. Každý vzorek byl analyzován třikrát. Výsledky tohoto měření shrnuje Tabulka 28. Z tabulky je patrné, že i přes to, že byla analyzována jedna odpadní voda 3x stejným způsobem, výsledky jednotlivých analýz se více či méně liší. Tento fakt má jednoduché vysvětlení, které vychází z fyzikálně chemických vlastností vybraných látek (kapitola 2.2.1.). Musk sloučeniny jsou ve vodě takřka nerozpustné, ale mají velkou afinitu k organickým částicím. Organické hmoty je v odpadní vodě (zejména na přítoku do ČOV) vysoké procento. Organické částice způsobují, že odpadní voda není v žádném případě homogenní materiál, a tak i přes snahu roztok před analýzou shodným způsobem promíchat, nebylo vždy dosaženo odebrání identického vzorku k analýze. Každá z těchto paralelních analýz má tedy jistou vypovídající hodnotu, a pokud by byly tyto hodnoty zprůměrovány, došlo by k velkému zkreslení výsledků.

Tabulka 28. Zjištěná množství sledovaných analytů (metoda HS), odpadní voda z ČOV situované v areálu VFU Brno

	AHTN (ng/ml)		MX (ng/ml)		MK (ng/ml)	
	Přítok	Odtok	Přítok	Odtok	Přítok	Odtok
8.3.2009	0,075	0,039	ND	ND	NQ	NQ
	0,107	0,016	ND	ND	NQ	NQ
	0,114	0,022	ND	ND	NQ	NQ
9.3.2009	0,127	ND*	ND	ND	NQ	ND
	0,124	ND	ND	ND	NQ	NQ
	0,061	ND	ND	ND	NQ	NQ
10.3.2009	0,079	0,037	ND	ND	NQ	NQ
	0,081	0,094	ND	ND	NQ	NQ
	0,082	0,022	ND	ND	NQ	ND
11.3.2009	0,065	0,074	ND	ND	NQ	NQ
	0,203	0,048	ND	ND	NQ	ND
	0,134	0,045	ND	ND	NQ	NQ
12.3.2009	0,313	0,220	NQ	ND	0,698	0,377
	0,400	0,039	NQ	ND	0,722	ND
	0,260	0,148	NQ	ND	NQ	NQ
13.3.2009	0,195	0,165	NQ	ND	NQ	NQ
	0,273	NQ**	NQ	ND	NQ	NQ
	0,047	ND	ND	ND	NQ	NQ
14.3.2009	0,328	NQ	ND	ND	NQ	ND
	0,483	NQ	NQ	ND	NQ	ND
	0,178	ND	ND	ND	NQ	ND

* ND ... nedetekováno, pod mezí detekce

** NQ ... detekováno, nekvantifikováno, pod mezí kvantifikace

4.4.1.2 Druhá série vzorků 23.3. – 27.3. 2009

Druhá série vzorků byla odebírána a stanovována v období od 23.3. – 27.3. 2009. Každé ráno byly odebrány vzorky odpadní vody z přítoku a na odtoku z ČOV Brno, Modřice. Tyto vzorky byly zpracovány metodou SPME – DI a vyhodnocovány metodou přídávku standardu. Také v tomto případě byl každý vzorek analyzován třikrát. Výsledky tohoto měření shrnuje Tabulka 29.

Tabulka 29. Zjištěná množství sledovaných analytů (metoda DI), odpadní voda z ČOV Brno, Modřice

	AHTN (ng/ml)		MX (ng/ml)		MK (ng/ml)	
	Přítok	Odtok	Přítok	Odtok	Přítok	Odtok
23.3.2009	0,182	0,096	NQ**	NQ	0,132	0,080
	0,112	0,141	NQ	NQ	0,034	0,059
	0,114	0,076	ND*	NQ	0,057	0,048
24.3.2009	0,213	0,012	ND	NQ	0,093	NQ
	0,211	0,013	NQ	NQ	0,050	NQ
	0,120	0,019	NQ	NQ	0,020	0,027

25.3. 2009	0,087	0,087	ND	NQ	0,115	0,035
	0,075	0,060	ND	ND	0,026	NQ
	0,068	0,068	ND	ND	0,027	NQ
26.3. 2009	0,124	0,046	ND	ND	0,035	0,027
	0,207	0,042	ND	ND	0,032	NQ
	0,156	0,039	ND	ND	0,067	0,035
27.3. 2009	0,206	0,043	ND	NQ	0,050	0,110
	0,229	0,131	NQ	NQ	0,111	0,176
	0,193	0,075	NQ	NQ	0,075	0,089

* ND ... nedetekováno, pod mezí detekce

** NQ ... detekováno, nekvantifikováno, pod mezí kvantifikace

4.4.1.3 Třetí série vzorků 13.4. – 17.4. 2009

Poslední, třetí série vzorků, byla odebírána a stanovována v období od 13.4. – 17.4. 2009. Každé ráno byly odebrány vzorky odpadní vody z přítoku a na odtoku z ČOV situované na VFU Brno. Tyto vzorky byly zpracovány metodou SPME – DI a vyhodnocovány metodou přidavku standardu. Každý vzorek byl opět analyzován třikrát. Výsledky měření třetí série vzorků shrnuje Tabulka 30.

Tabulka 30. Zjištěná množství sledovaných analytů (metoda DI), odpadní voda z ČOV situované v areálu VFU Brno

	AHTN (ng/ml)		MX (ng/ml)		MK (ng/ml)	
	Přítok	Odtok	Přítok	Odtok	Přítok	Odtok
13.4.2009	0,289	0,071	NQ**	ND	0,100	0,023
	0,229	0,103	ND*	ND	0,051	NQ
	0,311	0,062	NQ	ND	0,171	0,020
14.4. 2009	0,157	0,131	ND	ND	NQ	NQ
	0,076	0,077	ND	NQ	NQ	0,021
	0,083	0,068	ND	ND	NQ	0,025
15.4. 2009	0,076	0,059	ND	ND	0,100	0,021
	0,104	0,032	ND	ND	NQ	0,020
	0,046	0,061	ND	ND	NQ	0,021
16.4. 2009	0,032	0,045	ND	NQ	0,026	0,028
	0,026	0,023	ND	NQ	0,020	0,034
	0,027	0,045	ND	NQ	0,033	0,028
17.4. 2009	0,071	0,130	ND	ND	NQ	0,019
	0,052	0,019	ND	ND	0,021	NQ
	0,078	0,056	ND	ND	NQ	NQ

* ND ... nedetekováno, pod mezí detekce

** NQ ... detekováno, nekvantifikováno, pod mezí kvantifikace

4.4.1.4 Shrnutí detekovaných limitních koncentrací

Zjištěná limitní množství v průběhu celého měření byla zpracována do tabulky 31. V této tabulce jsou uvedeny maximální a minimální koncentrace jednotlivých analytů pro každou sérii vzorků, a to zvlášť pro přítok a odtok.

Tabulka 31. Maximální a minimální naměřené koncentrace sledovaných analytů

		AHTN		MX		MK	
		C _{max} (ng/ml)	C _{min} (ng/ml)	C _{max} (ng/ml)	C _{min} (ng/ml)	C _{max} (ng/ml)	C _{min} (ng/ml)
1. Série vzorků (VFU)	Přítok	0,483	0,047	NQ**	ND	0,722	ND
	Odtok	0,165	ND*	ND	ND	0,377	ND
2. Série vzorků (Modřice)	Přítok	0,229	0,068	NQ	ND	0,132	0,20
	Odtok	0,141	0,012	NQ	ND	0,176	NQ
3. Série vzorků (VFU)	Přítok	0,311	0,019	NQ	ND	0,171	NQ
	Odtok	0,131	0,027	NQ	ND	0,034	NQ

* ND ... nedetekováno, pod mezí detekce

** NQ ... detekováno, nekvantifikováno, pod mezí kvantifikace

4.4.2 Srovnání naměřených dat

4.4.2.1 Srovnání prováděných metod

Z předkládaných výsledků nelze obecně a jednoznačně určit, jestli je pro stanovení vybraných musk sloučenin vhodnější sorpce analytu Head Space nebo Direct Immersing. Lze ovšem konkretizovat některé výhody a nevýhody citovaných postupů, a to ve vztahu konkrétní metody ke konkrétnímu analytu.

Head Space – tato metoda se jeví jako vhodnější pro polycyklický musk Tonalid, který je těkavější, než zbylé dva sledované analyty; proto má vyšší tendenci přecházet do plynné fáze nad hladinou vzorku. Pro AHTN byly u HS pozorovány silnější odezvy na stejných koncentračních hladinách standardů než u DI. Také mez detekce a mez stanovitelnosti je pro AHTN mnohem nižší, než pro MX a MK. Hladina „šumu“ na základní linii byla pro MX a MK vysoká a vyhodnocování ploch píků nebylo jednoznačné. Retenční časy analytů sice vesměs odpovídaly, ale nebyly tak shodné jako u DI.

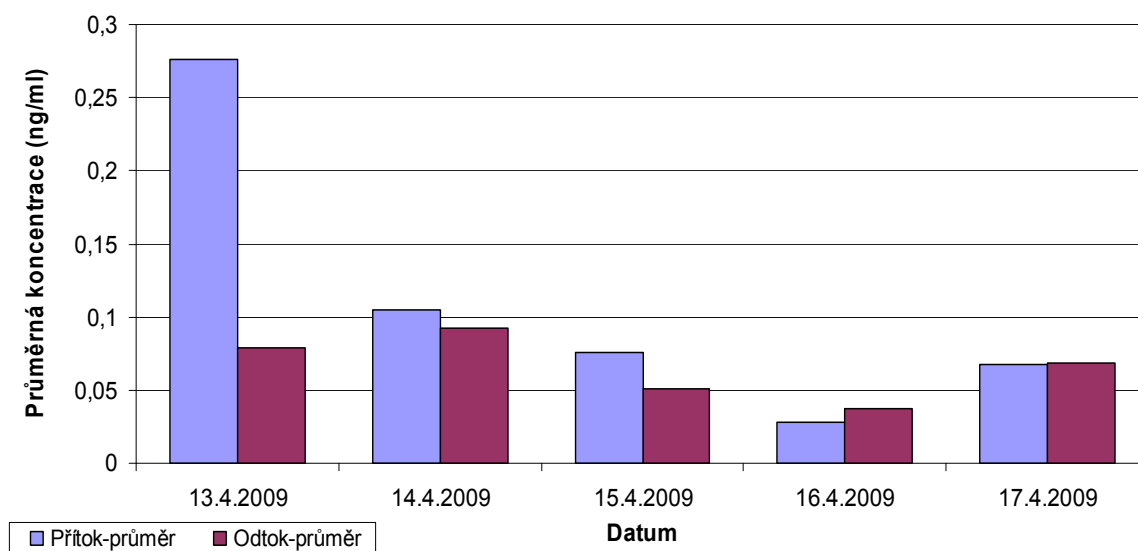
Direct Immersing – tato metoda se hodí spíše pro vybrané nitromusk sloučeniny, tj. pro Musk xylen a Musk keton; zde je situace přesně opačná od AHTN. MX a MK jsou méně těkavé, proto se ochotněji sorbovaly přímo z kapalného vzorku. Mez detekce je pro MX i MK mnohem nižší než u HS. Pravděpodobně to mohlo být způsobeno i tím, že v tomto případě byl MK vícekrát kvantifikován; s jistotou to samozřejmě nemůže být tvrzeno, protože se nejednalo o stejné vzorky vody. MX sice nebyl vůbec kvantifikován ani v tomto případě, ale plochy píků byly mnohem lépe vyhodnotitelné; také se zde vyskytlo mnohem více hodnot, které spadaly do kategorie „nekvantifikováno – NQ“. Velkou nevýhodou sorpce přímo ze vzorku odpadní vody je to, že látky přítomné v odpadní vodě významně snižují životnost používaného sorpčního vlákna.

4.4.2.2 Srovnání výsledků z ČOV VFU (Brno) a ČOV Modřice (Brno)

Čistírna odpadních vod na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně je zařízení sloužící pouze pro čištění odpadní vody, kterou univerzita sama vyprodukuje; z ČOV je vypouštěna do kanalizace. Naproti tomu velkokapacitní čistírna odpadních vod v Brně Modřicích je zařízení sloužící pro velkou spádovou oblast. Znamená to, že i zdroje odpadní vody budou u obou čistíren značně různorodé. Stejně tomu bude i se zdroji musk sloučenin, které byly v těchto vodách detekovány. Z tohoto důvodu lze pouze poukázat na jisté rozdíly. Navíc bylo možno pro účely porovnání použít pouze data tonalidu-AHTN z druhé a třetí série měření, protože je jediným analytem, u kterého byl získán ucelený soubor dat.

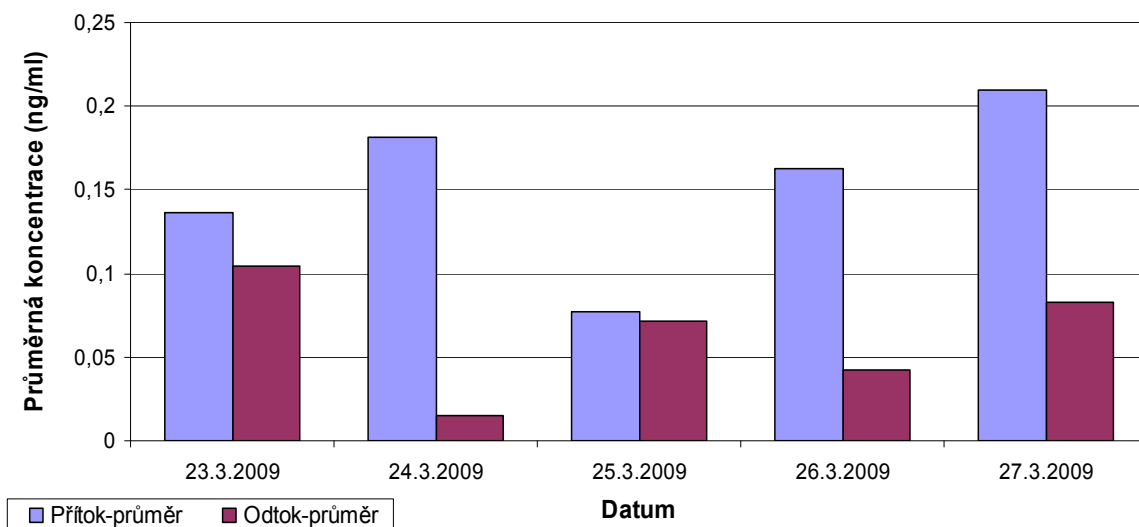
Pro snazší porovnávání byly hodnoty ze tří paralelních stanovení jednoho vzorku zprůměrovány; ale jak již bylo dříve řečeno, dojde tak ke zkreslení přesného a správného výsledku. Na Grafu 9 a Grafu 10 jsou prezentována průměrná množství tonalidu ve vodě odebrané na přítoku a na odtoku v jednotlivých dnech z obou čistíren. Na podkladě těchto výsledků lze konstatovat, že nejvyšší stanovené množství AHTN bylo zaznamenáno na přítoku do ČOV v areálu VFU Brno. Přesto však byly průměrně vyšší koncentrace prokázány na přítoku ČOV Brno Modřice. Množství AHTN, stanovená ve vodě na odtoku z ČOV, jsou v průměrných hodnotách pro obě čistírky srovnatelná. Toto i předchozí zjištění jednoznačně poukazuje na to, že technologie použitá v ČOV Brno Modřice dokáže odstranit vyšší procento AHTN při procesu čištění.

Stanovená množství AHTN - ČOV VFU Brno



Graf 9. Průměrné koncentrace tonalidu stanovené v odpadní vodě z ČOV VFU, Brno.

Stanovená množství AHTN - ČOV Brno Modřice



Graf. 10 Průměrné koncentrace tonalidu stanovené v odpadní vodě z ČOV Modřice, Brno.

4.4.2.3 Srovnání naměřených koncentrací s evropskými hodnotami

Ucelené informace o množstvích vybraných musk sloučenin detekovaných v odpadní vodě (do roku 2004), jsou k dispozici pouze ze studie OSPAR [37]. V této studii je uveden přehled naměřených koncentrací v různých evropských státech zjištěný v různých letech. Výsledky prezentované v diplomové práci však prokázaly, že zjištěné naměřené koncentrace AHTN a MK se pohybovaly spíše při spodních hranicích koncentrací naměřených v jiných evropských státech.

5 ZÁVĚR

Předkládaná diplomová práce byla zaměřena na problematiku syntetických musk sloučenin. Pro účely této studie byly vybrány dva zástupci ze skupiny nitromusk sloučenin, tj. musk xylen a musk keton a jeden zástupce ze skupiny polycyklických musk sloučenin – tonalid. Práce byla rozčleněna na teoretickou a praktickou část. Teoretická část představuje podrobně zpracovanou literární rešerši o syntetických vonných látkách; rešerše byla zaměřena na jejich fyzikálně chemické a environmentální vlastnosti a také na jejich osud v životním prostředí. Praktická část řešila dva hlavní problémy. V první řadě bylo nutno optimalizovat metodu, pomocí které byly musk sloučeniny v odpadních vodách zjišťovány. Poté byly touto optimalizovanou metodou vybrané musk sloučeniny stanovovány v odpadní vodě ze dvou ČOV. Po dobu třech týdnů byly následně sledovány koncentrace musk sloučenin v reálných vzorcích odpadní vody odebírané na přítoku a na odtoku ČOV umístěné v areálu Veterinární a farmaceutické univerzity Brno a na přítoku a na odtoku ČOV Brno Modřice.

Optimalizace metody

Byla optimalizována metoda mikroextrakce tuhou fází – SPME, použitá jako preanalytický postup. V experimentální části této práce byly prováděny dva možné způsoby sorpce na vlákno SPME, a to extrakce z plynné fáze nad hladinou vzorku tzv. Head Space analýza. Vzhledem k tomu, že tato metoda byla již optimalizována v předchozích diplomových pracích, byly optimální podmínky použity i pro řešení této práce. Druhým prováděným způsobem byla extrakce analytů přímo z prostoru kapalného vzorku tzv. Direct immersing. Tuto metodu bylo nutno optimalizovat, aby bylo při sorpci dosaženo maximálních možných výtěžků. Úspěšně byla optimalizována doba ustavení rovnováhy ve vialce před sorpcí a teplota, při které probíhala sorpce.

Analýza reálných vzorků

Všechny vzorky byly zpracovány metodou SPME z neupravované odpadní vody a analyty nasorbované na vláknech SPME byly následně analyzovány na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí. Před vlastním měřením reálných vzorků byly zhotoveny kalibrace z roztoků standardů jak v destilované vodě, tak v odpadní vodě – tzv. matriční kalibrace. Porovnáním těchto dvou kalibračních křivek bylo potvrzeno, že matriční efekty odpadní vody jsou velmi výrazné. Měření bylo prováděno dvěma výše uvedenými způsoby extrakce na vlákno SPME.

Head Space – byly analyzovány vzorky odpadní vody na přítoku a na odtoku ČOV situované na Veterinární a farmaceutické univerzitě Brno. Tyto výsledky byly kvantifikovány metodou externího standardu (kalibrační křivky).

Direct immersing - byly analyzovány vzorky odpadní vody na přítoku a na odtoku ČOV situované na Veterinární a farmaceutické univerzitě Brno a shodné vzorky odebrané v ČOV Brno Modřice. Tyto výsledky byly kvantifikovány metodou přídatku standardu.

Výsledky měření reálných vzorků

Tato diplomová práce byla zaměřena na sledování přítomnosti a množství třech vybraných musk sloučenin v odpadních vodách. Každý z těchto vybraných analytů byl v průběhu měření v odpadní vodě alespoň detekován. Toto zjištění potvrzuje již dříve zjištěné poznatky o kontaminaci vodního ekosystému těmito musk sloučeninami. Množství vzorků, ve kterých byly jednotlivé musk sloučeniny detekovány a kvantifikovány, se mezi sebou významně lišila. Nitromusk sloučenina – musk xylen – byla detekována pouze v několika málo případech na přítoku i odtoku obou ČOV. Jeho množství přítomné ve vodě ovšem nepřesáhlo mez

stanovitelnosti, proto nebyl ani jednou kvantifikován. Druhou nitromusk sloučeninou byl musk keton, který byl kvantifikován ve větším množství v odpadní vodě z ČOV Brno Modřice, než ve vodě z VFU Brno. Třetí hodnocenou musk sloučeninou byl tonalid ze skupiny polycyklických musk sloučenin. Ten byl, až na několik málo případů, detekován a kvantifikován ve všech vzorcích odpadní vody z přítoku i odtoku obou ČOV. Z toho plyne další jednoznačný závěr, že při procesu čištění odpadní vody nedochází k úplnému odstranění těchto látek z odpadní vody. S vyčištěnou vodou se pak tyto látky dostávají dále do recipientu, odkud se mohou dále šířit prakticky do všech složek životního prostředí.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Surburg, H., Panten, J.: *Common Fragrance and Flavor Materials*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim 2006. ISBN 3-527-31315-X.
- [2] Roosens, L., Covaci, A., Neels, H.: Concentrations of synthetic musk compounds in personal care and sanitation products and human exposure profiles through dermal application. *Chemosphere*, 2007. Vol. 69, No. 10, pp. 1540 – 1547.
- [3] Osemwengie, L.I., Steinberg, S.: Closed-loop stripping analysis of synthetic musk compounds from fish tissues with measurement by gas chromatography – mass spectrometry with selected-ion monitoring. *Journal of Chromatography A*, 2003. Vol. 993, No. 1-2, pp. 1 – 15.
- [4] Regueiro, J., Llompart, M., Garcia-Jares, C., Cela, R.: Development of a high-throughput method for the determination of organochlorinated compounds, nitromusks and pyrethroid insecticides in indoor dust. *Journal of Chromatography A*, 2007. Vol. 1174, No.1-2, pp. 112 – 124 .
- [5] *Synthetic musk* [online]. 2005 [cit. 2008-11-23]. Dostupný z WWW: <http://assets.panda.org/downloads/fact_sheet___synthetic_musks_food.pdf>.
- [6] Regueiro, J., Llompart, M., Garcia-Jares, C., Lamas J.P., Cela, R.: Development of a method based on sorbent trapping followed by solid-phase microextraction for the determination of synthetic musks in indoor air. *Journal of Chromatography A*, 2008. In Press, Corrected Proof, Available online 24 September. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>.
- [7] Osemwengie, L.I., Gerstenberger, S.L.: Levels of synthetic musk compounds in municipal wastewater for potential estimation of biota exposure in receiving waters. *J. Environ. Monit.*, 2004. Vol. 6, pp. 533 – 539.
- [8] Bester, K: Analysis of musk fragrances in environmental samples. *Journal of Chromatography A*, 2008. In Press, Corrected Proof, Available online 2 September. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>.
- [9] Luckenbach, T., Epel, D.: Nitromusk and Polycyclic Musk Compounds as Long-Term Inhibitors of Cellular Xenobiotic Defense Systems Mediated by Multidrug Transporters. *Environmental Health Perspectives*, 2005. Vol. 113, No. 1, pp. 17 – 24.
- [10] Liebl, B., Ehrenstorfer, S.: Nitro Musks In Human Milk, *Chemosphere*, 1993. Vol.27, No. 11, pp. 2253 – 2260.
- [11] Müller, S., Schmid, P., Schlatter, Ch.: Occurrence of nitro and non-nitro benzenoid musk compounds in human adipose tissue, *Chemosphere*, 1996. Vol. 33, No. 1, pp. 17 – 28.
- [12] Rimkus, G.G.: Polycyclic musk fragrances in the aquatic environment. *Toxicology Letters*, 1999. Vol. 111, No1-2. pp. 37 – 56.
- [13] Peck, A., Kucklick, J., Schantz, M.: Synthetic musk fragrances in environmental standard reference materials. *Anal Bioanal Chem*, 2007. Vol. 387, No. 7, pp. 2381 – 2388.

- [14] Duedahl-Olesen, L., Cederberg, T., Høgsbro Pedersen, K., Højgård, A.: Synthetic musk fragrances in trout from Danish fish farms and human milk. *Chemosphere*, 2005. Vol. 61, No. 3, pp. 422 – 431.
- [15] Bügel Mogensen, B., et al.: Musk Compounds in the Nordic environment. In Nordic Council of Ministers. *TemaNord 2004:503*. Copenhagen: Ekspressen Tryk & Kopicenter, 2004. pp. 1-69. ISBN 92-893-0981-4. ISSN 0908 – 6692.
- [16] Peck, A.M., Hornbuckle, K.C.: Synthetic musk fragrances in urban and rural air of Iowa and the Great Lakes. *Atmospheric Environment*, 2006. Vol. 40, No. 32, pp. 6101 – 6111.
- [17] Tas, J.W., Balk, F., Ford, R.A., Van de Plassche, E.J.: Environmental risk assessment of musk ketone and musk xylene in the Netherlands in accordance with the EU-TGD. *Chemosphere*, 1997. Vol. 35, No. 12, pp. 2973 – 3002.
- [18] Kallenborn, R., Gatermann, R., Planting, S., Rimkus, G.G., Lund, M., Schlabach, M., Burkow, I.C.: Gas chromatographic determination of synthetic musk compounds in Norwegian air samples, *Journal of Chromatography A*, 1999. Vol. 846, No. 1-2, pp. 295 –306.
- [19] Rubinfeld, S., Luthy, R.G., : Nitromusk compounds in San Francisco Bay sediments *Chemosphere*, 2008. Vol. 73, No. 6, pp. 873 – 879.
- [20] Smyth S.A., Lishman, L., Alaei, M., Kleywegt, S., Svoboda, L., Yang, J., Lee, H., Seto, P.: Sample storage and extraction efficiencies in determination of polycyclic and nitro musks in sewage sludge. *Chemosphere*, 2007. Vol. 67, No. 2, pp. 267 – 275.
- [21] García-Jares, C., Llombart, M., Polo, M., Salgado, C., Macías, S., Cela, R.: Optimisation of a solid-phase microextraction method for synthetic musk compounds in water. *Journal of Chromatography A*, 2002. Vol. 963, No. 1-2, pp 277 – 285.
- [22] Muñoz, I., Gómez, M.J., Molina-Díaz, A., Huijbregts, M.A.J., Fernández-Alba, A.R., García-Calvo, E.: Ranking potential impacts of priority and emerging pollutants in urban wastewater through life cycle impact assessment. *Chemosphere*, 2008. Vol. 74, No. 1, pp. 37 – 44.
- [23] Kuklennyik, Z., Bryant, X.A., Needham, L.L., Calafat, A.M.: SPE/SPME–GC/MS approach for measuring musk compounds in serum and breast milk. *Journal of Chromatography B*, 2007. Vol. 858, No. 1-2, pp. 177 – 183.
- [24] Osemwengie, L.I., Steinberg, S.: On-site solid-phase extraction and laboratory analysis of ultra-trace synthetic musks in municipal sewage effluent using gas chromatography–mass spectrometry in the full-scan mode. *Journal of Chromatography A*, 2001. Vol. 932, No. 1-2, pp. 107 – 118.
- [25] Vonášek, F., Trepková, E., Novotný, L.: *Látky vonné a chuťové*. SNTL, Praha a Alfa, Bratislava 1987. 437 s.
- [26] Groom, N.: *Průvodce parfémy. Příručka pro znalce*. Fortuna Print. Praha. 2000. s. 192. ISBN 80-86144-55-0

- [27] Hlava, B., Starý, F., Pospíšil, F.: *Rostliny v kozmetike*. Příroda. Bratislava. 1983. s 237.
- [28] Martinková, M.: *Kozmetická chémia* [online]. [cit. 2008-11-12]. Dostupný z WWW: <<http://kekule.science.upjs.sk/chemia/kuch/CHBZ3.html>>.
- [29] Fortineau A.D.: Chemistry Perfumes Your Daily Life. *Journal of Chemical Education*, 2004. Vol. 81, No. 1, pp. 45 – 50.
- [30] Coleman, W.F: Featured Molecules: Perfume Chemistry: Jasmone, α -Damascone, Geraniol, Civetone, and Musk Baur. *Journal of Chemical Education*, 2004. Vol. 81, No. 1, pp. 57.
- [31] Co je Aromaterapie - vysvětlení pojmů. [online]. Poslední revize 04. června 2008 [cit. 2009-02-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.aromaterapie.cz/index.php?/pages/aromaterapie.html>>.
- [32] Trepková, E., Vonášek, F.: *Vůně a parfémy. Tajemství přitažlivosti*. Maxdorf. Praha. 1997. s. 173. ISBN 80-85500-48-9.
- [33] Vodrážka, Z.: *Biochemie*. (2nd revised edition) Academia, Praha 1996. s 192. ISBN 80-200-0600-1.
- [34] Butte, W., Schmidta, S., Schmidt, A.: Photochemical degradation of nitrated musk compounds. *Chemosphere*. 1999. Vol. 38, No. 6, pp. 1287-1291.
- [35] Gatermann, R., Rimkus, G.G., Hühnerfuss, H., Attar, A., Kettrup, A.: Occurrence of musk xylene and musk ketone metabolites in the aquatic environment. *Chemosphere*. 1998. Vol. 36. No. 11, pp. 2535-2547.
- [36] The Good Scents Company [databáze online]. Dostupný na WWW: <<http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1008671.html>>.
- [37] OSPAR (Oslo and Paris Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic): OSPAR background document on musk xylene and other musks. OSPAR Commission. 2004. s. 45. ISBN 1-904426-36-0.
- [38] Abramsson-Zetterberg, L., Slanina, P.: Macrocyclic musk compounds - an absence of genotoxicity in the Ames test and the in vivo Micronucleus assay. *Toxicology Letters*. 2002. Vol. 135, No 1-2, pp 155-163.
- [39] Marcus, E.H.: New alicyclic musks: The fourth generation of musk odorants. *Chemistry & biodiversity*. 2004, Vol. 1, No. 12, pp. 1975–1984. ISSN 1612-1872.
- [40] Kraft, P., Popaj, K.: New Musk Odorants: (3E)-4-(2_-Alkyl-5_,5_-dimethylcyclopent-1-enyl)but-3-en-2-ones and (3E)-1-Acetyl-3-alkylidene-4,4-dimethylcyclohexenes. *Eur. J. Org. Chem.* 2008, Vol. 2008, No. 28, pp. 4806 – 4814.
- [41] Kraft, P.: “Brain Aided” Musk Design. *Chemistry & Biodiversity*. 2004. Vol. 1, No. 12, pp. 1957 – 1974.

[42] *Fragrances 2000*. Draft for public hearing. Swedish Society for Nature Conservation | Foundations concerning criteria for BRA MILJÖVAL, 2000. 49 s. Dostupný z WWW: <<http://www.leffingwell.com/rap-bmv-fragrances2000.pdf>>.

[43] SECO Environment AB, Törneman, N.: *Screening of musk substances : SWECO Environment Screening Report 2008:2*. Swedish Environmental Protection Agency. SWECO, Malmö. 2008. 37 s.

[44] ECHA - Evropská agentura pro chemické látky: *Data on manufacture, import, export, uses and releases of musk xylene (CAS NO 81-15-2). As well as information on potential alternatives to its use*. ECHA Helsinky. 2008. 31 s. Dostupný z WWW: <http://echa.europa.eu/doc/consultations/recommendations/tech_reports/tech_rep_musk_xylene.pdf>.

[45] BLAHOVÁ, E.: *Stanovení vybraných "Musk" sloučenin v biotických vzorcích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 72 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

[46] Aschmann, S.M., Arey, J., Atkinson, R., Simonich S.L.: Atmospheric Lifetimes and Fates of Selected Fragrance Materials and Volatile Model Compounds. *Environ. Sci. Technol.* 2001. Vol. 35, No. 18, pp. 3595–3600. ISSN 0013-936X.

[47] HERA: *Human & Environmental Risk Assessment on ingredients of Household Cleaning Products Polycyclic musks AHTN (CAS 1506-02-1) and HHCB (CAS 1222-05-05)*. HERA - Human & Environmental Risk Assessment. Version 2.0. 2004. s. 80.

[48] Vyhláška MŽP č. 382/2001 Sb., ze dne 17. října 2001, o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě, 2001. 8 s.

[49] Zimová, M., Matějů, L.: Kontaminace kalů z čistíren odpadních vod patogenními mikroorganismy a organickými látkami. In *Možnosti využití kalů z ČOV v zemědělství, VÚRV Praha: sborník přednášek z odborného semináře, Praha 27. dubna 2000*. pp.15–22. ISBN: 80-238-5333-3.

[50] Rimkus, G.G., Gatermann, R., Hühnerfuss, H.: Musk xylene and musk ketone amino metabolites in the aquatic environment. *Toxicology Letters*. 1999. Vol. 111, No 1-2, pp 5-15. ISSN 0378-4274.

[51] Holoubek I.: *Chemické látky v prostředí – základní definice a pojmy*. Brno- RECETOX, Masaryk University. 2008. 72 s. Dostupný z WWW: <http://www.recetox.muni.cz/res/file/prednasky/holoubek/chzp-i-2008/CH%C5%BDP_I_04_Chemick%C3%A9%20l%C3%A1tky%20v%20prost%C5%99ed%C3%AD%20-%20definice,%20pojmy.pdf>.

[52] Eason, Ch., O'Halloran, K.: Biomarkers in toxicology versus ecological risk assessment. *Toxicology*. 2002. Vol. 181- 182, No 27, pp 517-521.

[53] *Brněnské vodárny a kanalizace* [online]. [2005] [cit. 2009-13-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.bvk.cz/page.jsp>>.

- [54] SIGMA-ALDRICH: Solid phase microextraction. [online]. 2009 [cit. 2009-13-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/literature/analyticaltechnique/solid-phase-microextraction.html>>.
- [55] Riddellová, K.: Mikroextrakce tuhou fází (SPME). VŠCHT Praha. 2007. 43 s.
- [56] Klouda, P.: *Moderní analytické metody*. 2. dopl. vyd. Ostrava : Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [57] Plynová chromatografie. Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Universita Palackého, Olomouc. 2003. 2 s. Dostupný na WWW: <http://ach.upol.cz/ulohy/GC_uvod.pdf>
- [58] Plynová chromatografie (GC). Masarykova Univerzita, Brno. 2003. 9 s. Dostupný na WWW: < <http://www.chemi.muni.cz/~literak/uvod.pdf>>.
- [59] Ševčík, J. G. K.: *Plynová chromatografie a její aplikace v organické analýze*. Katedra analytické chemie PŘF UK, Praha. 2002. 40 s. ISBN 80-902432-9-0.
- [60] Barker, J.: *Mass spectrometry*. 2nd edition. UK, University of Greenwich : John Wiley & Sons. 1999. 509 s. ISBN 0471967629.
- [61] Jonas, J.: *Hmotnostní spektroskopie*, 1. vyd., Státní pedagogické nakladatelství, Praha. 1985, 111 s.
- [62] Příloha k vyhlášce č. 1/1998 Sb., ze dne 9. prosince 1997, kterou se stanoví požadavky na jakost, postup při přípravě, zkoušení, uchovávání a dávkování léčiv (Český lékopis 1997).
- [63] SIGMA-ALDRICH: Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions. [online]. 2009 [cit. 2009-28-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/Bulletin/4547.Par.0001.File.tmp/4547.pdf>>.
- [64] HPLC: Mez detekce a mez stanovitelnosti. [online]. 2007 [cit. 2009-28-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.hplc.cz/>>.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ADBI	Celestolid
AFID	plamenový termoionizační detektor
AHDI	Phantolid
AHTN	Tonalid
ArD	argonový detektor
ATII	Traseolid
B	separace magnetickým polem
BAF	bioakumulační faktor
BCF	biokoncentrační faktor
CI	chemická ionizace
ČOV	čistírna odpadních vod
DI	direct immersing
EC ₅₀	efektivní koncentrace
ECD	detektor elektronového záchytu
ED ₅₀	efektivní dávka
EI	ionizace elektronovým paprskem
FAB	ionizace bombardováním rychlými částicemi
FD	desorpce elektrickým polem
FCH VUT	Fakulta chemická Vysokého učení technického
FI	ionizace elektrickým polem
FID	plamenový ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
HeD	heliový detektor
HHCB	Galaxolide
HPLC	kapalinová chromatografie
HS	head space
ICR	iontová cyklotronová rezonance
IRS	infračervený spektrometr
LD	desorpce laserem
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
MALDI	ionizace desorpcí laserem v přítomnosti matrice
MIM	multiple-ion monitoring, fragmentometrický mód v hmotnostní spektrometrii
MK	Musk keton
MM	Moskene
MRM	multiple reaction monitoring, fragmentometrický mód v hmotnostní spektrometrii
MS	hmotnostní spektrometr
MT	Musk tibetene
MX	Musk xylen
m/z	poměr hmotnosti a náboje
ND	nedetekováno
NQ	nekvantifikováno
OSPAR	úmluva na ochranu mořského prostředí severovýchodního Atlantiku
PCBs	polychlorované bifenylly
PDMS/DVB	polydimethylsiloxan/divinylbenzen
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových kationtů
POPs	perzistentní organické polutanty
Q	kvadrupólový analyzátor

QIT	kvadrupólová iontová past
SCAN	mód kompletního spektra v hmotnostní spektrometrii
SIM	single-ion monitoring, fragmentometrický mód v hmotnostní spektrometrii
SPME	mikroextrakce tuhou fází
TCD	tepelně vodivostní detektor
TOF	separace podle doby letu
UV	ultrafialové záření
VFU	Veterinární a farmaceutická univerzita
ŽP	životní prostředí

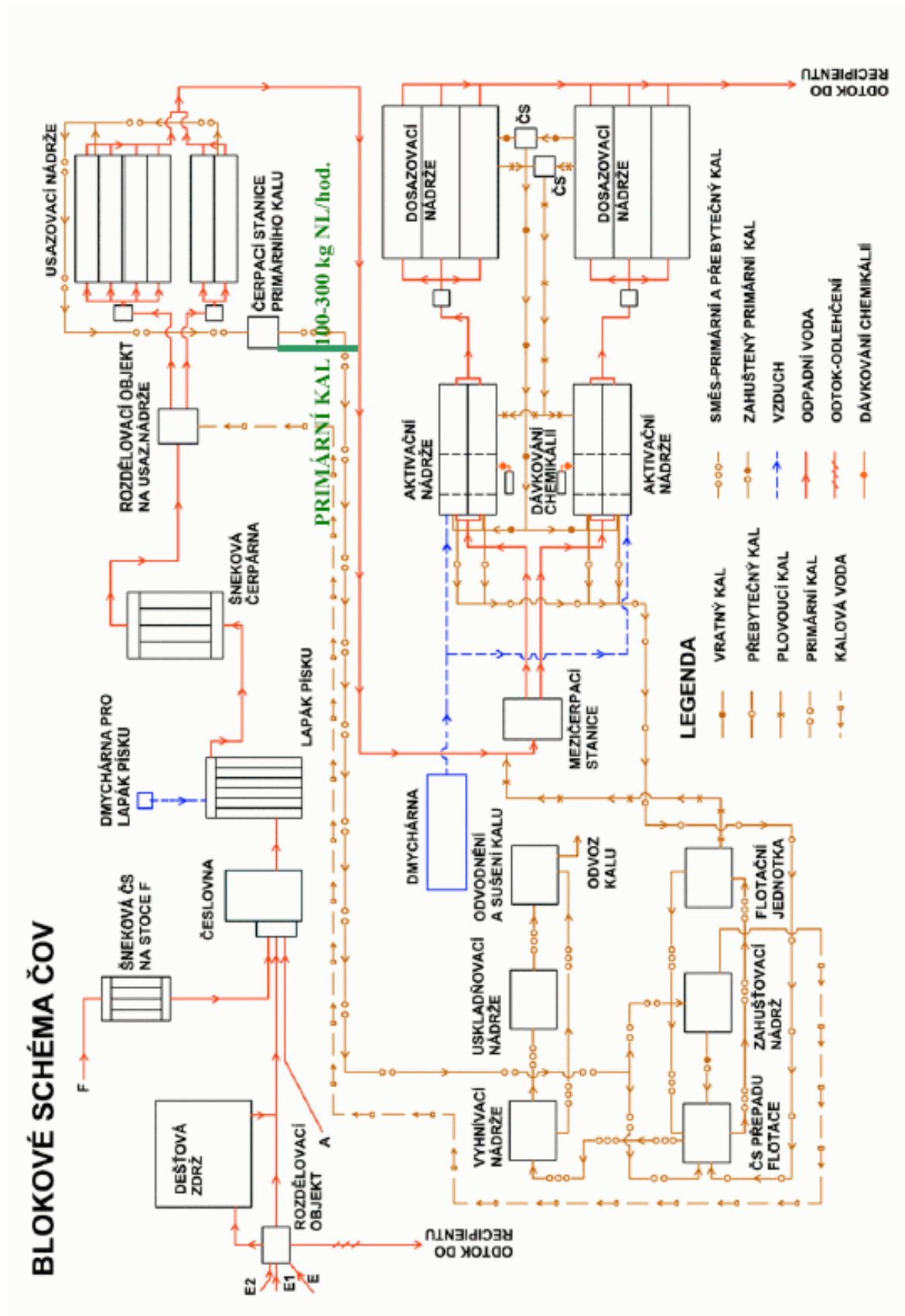
8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I	Letecký snímek na ČOV Brno – Modřice
Příloha II	Blokové schéma ČOV Brno – Modřice
Příloha III	Aktivační nádrž během provzdušňování (biologický stupeň)
Příloha IV	Aktivační nádrž (biologický stupeň)
Příloha V	Dosazovací nádrž
Příloha VI	Pohled na kalové hospodářství ČOV Brno – Modřice
Příloha VII	Malá čistírna odpadních vod ČOV VFU Brno
Příloha VIII	Celkový pohled na technologické vybavení malé ČOV VFU Brno
Příloha IX	Aparatura pro sorpci analytů na SPME vlákno a pomůcky pro přípravu vzorku
Příloha X	Plynový chromatograf Hewlett-Packard 6890N GC s hmotnostním detektorem MSD 5973N
Příloha XI	Detail SPME držáku při probíhající desorpci analytů z vlákna do GC

9 PŘÍLOHY

Příloha I





Příloha III



Příloha IV



Příloha V



Příloha VI



Příloha VII



Příloha VIII



Příloha IX



Příloha X



