



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

## ALKYLDERIVÁTY POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

ALKYLDERIVATIVES OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN THE ENVIRONMENT

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Klára Jagošová

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.

BRNO 2016



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

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0923/2015** Akademický rok: **2015/2016**  
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Student(ka): **Klára Jagošová**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie (B2801)  
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805R002)  
Vedoucí práce **doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.**  
Konzultanti:

### Název bakalářské práce:

Alkylderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků v životním prostředí

### Zadání bakalářské práce:

1. Vypracování literární rešerše zaměřené na výskyt alkylderivátů polycyklických aromatických uhlovodíků, na možnosti jejich analytického stanovení, na charakterizaci jejich negativních vlivů a na možnosti interpretace získaných dat, včetně environmentálně-forenzního zaměření.
2. Návrh optimálního analytického postupu pro vzorkování a analýzu sledovaných látek se zohledněním možností laboratoří ÚCHTOŽP.
3. Dle možností ověření navrženého postupu na vybraném malém souboru vzorků.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 3.6.2016

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

-----  
Klára Jagošová  
Student(ka)

-----  
doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.  
Vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
Děkan fakulty

## **Abstrakt**

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou alkylderivátů polycyklických aromatických uhlovodíků v jednotlivých složkách životního prostředí. V první části práce jsou shrnuty základní informace o jejich fyzikálních a chemických vlastnostech, toxikologii a osudu v životním prostředí. Druhá část práce je zaměřena na současné metody stanovení těchto škodlivých látek, včetně pasivního a aktivního vzorkování z jednotlivých matric, extrakce, přečištění a finální analýzy. Ve třetí části je navržen standardní operační postup pro stanovení alkylderivátů PAHs v reálném vzorku sestávající se z tlakové extrakce rozpouštědlem, sloupcové chromatografie a kompletní dvoudimenzionální plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. V závěrečných kapitolách je diskutována experimentální část a výsledky stanovení alkylderivátů PAHs v laboratořích ÚCHTŽP.

## **Abstract**

This bachelor thesis deals with alkylderivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment. Basic information about its physicochemical properties, toxicology and environmental fate is presented here. The second part of thesis is focused on suitable method for the determination of these harmful compounds, including sampling, extraction, cleaning step and final analysis. In the third part the draft of standard operating procedure for the determination of A-PAHs in the real sample is outlined. The analysis consists from three steps – Pressurized Solvent Extraction, column chromatography and two-dimensional gas chromatography with mass spectrometry. The final sections of thesis discusses the experimental part and results of determination of A-PAHs.

## **Klíčová slova**

Alkylderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků, kompletní dvoudimenzionální plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí, extrakce

## **Keywords**

Alkylderivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons, comprehensive two-dimensional gas chromatography with mass spectrometric detection, extraction

JAGOŠOVÁ, K. Alkylderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků v životním prostředí. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. XY s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.

## **Prohlášení**

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

.....  
Podpis studenta

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé práce doc. Ing. Josefu Čáslavskému, CSc. za cenné rady a konzultace, které mi pomohly s vypracováním této práce.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Teoretická část</b> .....	<b>8</b>
2.1	Polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich deriváty.....	8
2.2	Nomenklatura .....	9
2.3	Fyzikální a chemické vlastnosti.....	10
2.4	A-PAHs v životním prostředí .....	11
2.5	Toxikologie .....	12
2.6	Karcinogenita a mutagenita.....	12
2.7	Osud A-PAHs v životním prostředí .....	15
2.7.1	A-PAHs v atmosféře .....	15
2.7.2	A-PAHs ve vodách a sedimentech .....	15
2.7.3	A-PAHs v půdě .....	16
2.8	Využití A-PAHs k určení původu kontaminace .....	17
<b>3</b>	<b>Analýza A-PAHs</b> .....	<b>18</b>
3.1	Vzorkování .....	18
3.1.1	Odběr vzorků ovzduší .....	18
3.1.1.1	Vzorkovače se semipermeabilní membránou (SPMDs).....	19
3.1.1.2	PUF Sampler .....	19
3.1.1.3	POG .....	20
3.1.2	Odběr vzorku vody .....	20
3.1.2.1	Keramický dozimetr .....	21
3.1.2.2	MESCO .....	21
3.1.3	Odběr vzorku půdy .....	22
3.2	Izolační metody .....	22
3.2.1	Extrakce tuhých vzorků .....	23
3.2.1.1	Extrakce v Soxhletově extraktoru .....	23
3.2.1.2	Tlaková extrakce rozpouštědlem.....	24
3.2.1.2.1	Vliv přípravy vzorku .....	25
3.2.1.2.2	Vliv rozpouštědla.....	25
3.2.1.2.3	Vliv teploty, tlaku a doby extrakce.....	25
3.2.1.3	Mikrovlňná extrakce.....	25

3.2.1.4	Superkritická fluidní extrakce SFE .....	26
3.2.2	Extrakce kapalných vzorků .....	27
3.2.2.1	Extrakce kapalina–kapalina.....	27
3.2.2.2	Extrakce tuhou fází SPE.....	27
3.2.2.3	Mikroextrakce tuhou fází .....	28
3.3	Přečištění .....	28
3.3.1	Gelová permeační chromatografie .....	29
3.3.2	Sloupcová chromatografie.....	29
3.4	Finální analýza .....	30
3.4.1	Plynová chromatografie.....	30
3.4.1.1	Identifikace A-PAHs pomocí retenčních indexů.....	32
3.4.2	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie .....	33
<b>4</b>	<b>Metoda .....</b>	<b>35</b>
4.1	Tlaková extrakce rozpouštědlem.....	35
4.2	Sloupcová chromatografie.....	35
4.3	GC×GC-TOF MS .....	35
<b>5</b>	<b>Experimentální část.....</b>	<b>37</b>
5.1	Použité chemikálie .....	37
5.2	Přístroje a zařízení .....	37
5.3	Vzorky .....	37
5.3.1	Sloupcová chromatografie.....	37
5.3.2	Analýza vzorků.....	41
5.3.3	Podmínky analýzy .....	42
<b>6</b>	<b>Výsledky a diskuze.....</b>	<b>43</b>
6.1	Analýza vzorků pomocí GC-MS .....	43
6.1.1	Vzorek hydrogenovaného pyrolýzního oleje.....	45
6.1.2	První frakce vzorku 2 a 3.....	46
6.1.3	Druhá frakce vzorku 2 .....	48
6.1.4	Druhá frakce vzorku 3 .....	50
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>Seznam citované literatury .....</b>	<b>53</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratek a symbolů.....</b>	<b>59</b>
<b>10</b>	<b>Seznam příloh .....</b>	<b>60</b>
<b>11</b>	<b>Přílohy.....</b>	<b>61</b>

# 1 Úvod

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) a jejich deriváty jsou všudypřítomné kontaminanty životního prostředí, kam se dostávají ve směsích řadou antropogenních a přírodních procesů. Parentní PAHs jsou tvořeny dvěma a více kondenzovanými benzenovými jádry v různých uspořádáních. Nahrazením jednoho nebo více vodíků ve struktuře PAHs alkylovou skupinou vznikají alkylované deriváty A-PAHs .

Jedná se o semivolatilní látky s nízkou tenzí par a odolností vůči chemickým reakcím, což vede spíše k jejich akumulaci než degradaci v jednotlivých složkách životního prostředí. Díky jejich lipofilnímu charakteru jsou velmi málo rozpustné ve vodě. Podle jejich molekulární hmotnosti a fyzikálně-chemických vlastností můžeme předpokládat jejich výskyt. Nízkomolekulární PAHs se nacházejí volně ve vzduchu i vodě, vysokomolekulární PAHs mají tendenci vázat se na pevné částice jako je sediment, poléťavý prach atd.

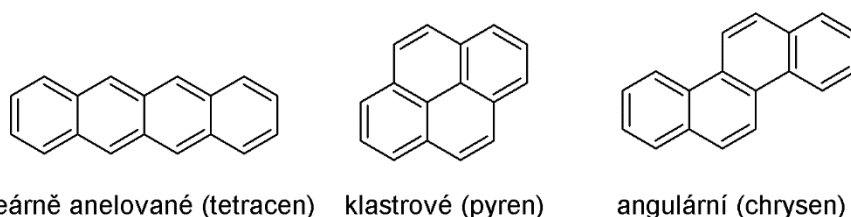
A-PAHs se do životního prostředí dostávají antropogenními a přírodními procesy. Mezi přírodní procesy produkující A-PAHs patří lesní požáry a vulkanická činnost. Nejvýznamnějšími antropogenními zdroji je nedokonalé spalování organických látek (pyrogenní procesy) a spalování fosilních paliv. V současné době koncentrace PAHs a jejich derivátů v životním prostředí roste, a to především díky čím dál vyšším nárokům na energetiku a husté dopravě.

Koncentrace PAHs se konstantně monitorují, a to zejména kvůli jejich negativním dopadům na člověka i životní prostředí. Některé PAHs a jejich deriváty se dokáží v živých organismech vázat na strukturu DNA a vyvolávat rakovinné bujení. Lidský organismus může být těmito látkám vystaven konzumací uzených a tepelně upravených pokrmů, respirační kontaminovaného vzduchu nebo kouřením a dermálně kontaktem kůže jedince s kontaminovanou složkou životního prostředí [1].

## 2 Teoretická část

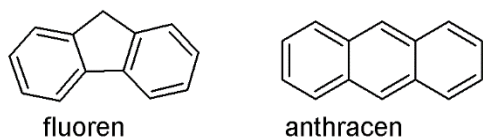
### 2.1 Polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich deriváty

Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou skupinou organických látek tvořených dvěma a více kondenzovanými benzenovými jádry. Podle uspořádání benzenových jader vykazují PAHs tři základní uspořádání, a to lineárně anelované, klastrové a angulární. Stabilita molekuly roste od lineárního uspořádání k angulárnímu [2,3].



Obrázek 1: Základní uspořádání benzenových jader v PAHs [2].

PAHs mohou obsahovat i kruhy s více či méně atomy uhlíku, kondenzované na benzenové kruhy. Z tohoto hlediska dělíme PAHs na střídavé a nestřídavé [4].

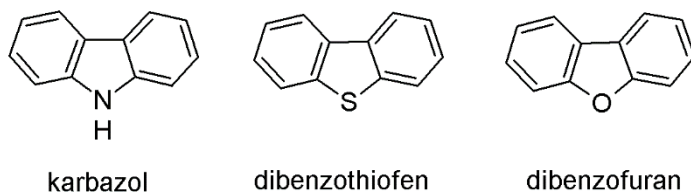


Obrázek 2: Příklad střídavé a nestřídavé struktury PAHs [4].

Na původní molekulu PAHs mohou být navázány různé substituenty. Takovéto látky označujeme jako deriváty PAHs a původní molekula bez substituentů bývá označována jako parentní. Mezi nejvíce studované deriváty patří:

- Nitrované PAHs – obsahují ve své struktuře jednu nebo více nitro skupin.
- Alkylované PAHs – obsahují ve své struktuře jednu nebo více alkylových skupin.
- Aminické PAHs – obsahují ve své struktuře jednu nebo více aminoskupin.
- Halogenované PAHs – obsahují ve své struktuře jeden nebo více halogenů [5].

Dále do skupiny derivátů můžeme zařadit PAHs obsahující ve svém základním skeletu jeden nebo více heteroatomů. Heteroatomem bývá nejčastěji dusík, síra nebo kyslík.

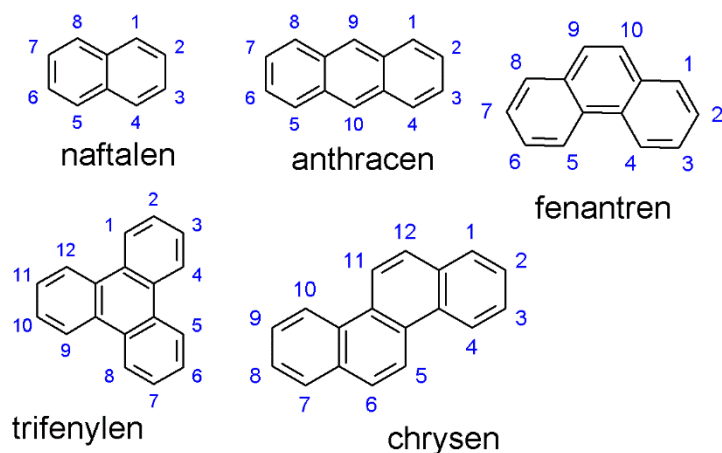


Obrázek 3: Příklady heterocyklických sloučenin [4].

Alkylované PAHs tedy patří do skupiny derivátů PAHs. Nejčastěji se vyskytující alkylovou skupinou je metylová, vyskytují se však i delší např. ethylové a isopropylové [6, 7].

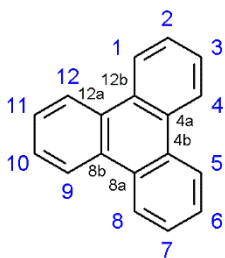
## 2.2 Nomenklatura

Mnoho parentních PAHs bylo v historii pojmenováno nesystematicky, triviálně. Některé byly pojmenovány podle toho, že byly poprvé izolovány z uhlénoho dehtu (naftalen, pyren), další byly pojmenovány podle barvy (fluoranthen) a některé podle tvaru molekuly (koronen). V současné době se nomenklatura PAHs a jejich derivátů řídí systémem IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry).



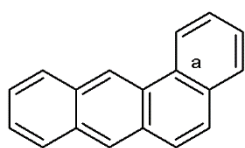
Obrázek 4: Příklady číslování atomů uhlíku ve strukturních vzorcích PAHs [8].

Pro správné pojmenování molekuly je nutné korektní číslování atomů uhlíku. Číslovat se začíná vedle uhlíku, který není společný pro oba aromatické kruhy a je v nejvýše položeném kruhu. Uhlíky, které jsou společné pro oba kruhy, se označují písmeny a, b, c, ... a číslem předchozího atomu uhlíku (viz. obrázek 5).

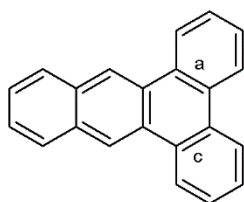


Obrázek 5: Ukázka číslování společných uhlíků [9].

Názvy složitějších molekul se vytvářejí z triviálních názvů jednodušších přidáním prefixu benzo-, případně pro skupinu kruhů indeno-, a označením strany, ke které se benzenový kruh připojuje. Pokud je to nutné, označíme připojení benzenových kruhů příslušnými čísly uhlíků, na kterých k vazbě dochází.



benzo[a]anthracen



dibenzo[a,c]anthracen

Obrázek 6: Ukázka odvození názvů složitějších molekul [9].

Pro pojmenování A-PAHs tedy využijeme názvu parentní molekuly. Prefixem vyjádříme délku uhlíkatého řetězce (methyl-, ethyl-), který připojujeme a lokalizaci této skupiny vyjádříme číslem uhlíku, na kterém k vazbě dochází [3, 4, 8].

## 2.3 Fyzikální a chemické vlastnosti

Fyzikální a chemické vlastnosti poskytují informace, díky kterým je možné odhadovat chování a osud sledované látky v životním prostředí, předpovídat distribuci v jednotlivých složkách ekosystému (půdě, vodě, sedimentech, vzduchu atd.) a posoudit rizika a škodlivost dané látky na zdraví zvířat a lidí.

Fyzikální a chemické vlastnosti A-PAHs se mění v závislosti na struktuře konkrétní molekuly. Především se jedná o počet a uspořádání benzenových jader, molekulární hmotnost a substituci na těchto jádrech. Platí, že s rostoucí molekulovou hmotností klesá rozpustnost ve vodě a tenze par, naopak roste bod tání a rozdělovací koeficient oktanol-voda. Mezi další významné vlastnosti patří bioakumulační potenciál, hustota, index lomu, schopnost sorpce na sedimenty a Henryho konstanta [10].

Obecně se A-PAHs za normální teploty vyskytují v pevném skupenství. Díky  $\pi$ -elektronovému systému benzenových jader se jedná o značně stabilní látky, které mohou absorbovat UV záření za poskytnutí specifických spekter a po ozáření UV lampou fluoreskují. Tyto vlastnosti umožňují jejich detekci. Vykazují nepolární charakter a poměrně vysoké teploty varu. Vybrané fyzikální a chemické vlastnosti substituovaných naftalenů jsou uvedeny v tabulce 1 [11].

Tabulka 1: Fyzikální a chemické vlastnosti substituovaných naftalenů [10].

Sloučenina	$M_r$ [g·mol <sup>-1</sup> ]	log $S_w$ [mmol·l <sup>-1</sup> ]	Log $K_{ow}$	Log $P_v$ [Pa]
Naftalen	128,18	2,906	3,30	1,577
1-methylnaftalen	142,197	2,456	3,72	0,691
1,2-dimethylnaftalen	156,224	1,978	4,26	0,208
1,2,4-trimethylnaftalen	170,25	1,448	4,81	-0,170
1,2,5,6-tetramethylnaftalen	184,277	0,879	5,36	-519

Z tabulky je patrné, že rozpustnost ve vodě  $S_w$  a tenze par  $P_v$  klesá se zvyšujícím se počtem methylových skupin a rozdělovací koeficient oktanol-voda  $K_{ow}$  naopak roste. Nízká rozpustnost a vysoké hodnoty  $K_{ow}$  u vysoce methylovaných naftalenů poukazují na to, že látky jsou ve vodě v malých koncentracích a mají spíše tendenci se bioakumulovat v sedimentech. Na fyzikální a chemické vlastnosti má vliv nejen počet alkylových skupin, ale i jejich pozice v molekule [10].

Tabulka 2: Závislost bodu varu na poloze methylové skupiny v molekule naftalenu [12, 13].

Sloučenina	Bod varu [°C]
2-methylnaftalen	241
1-methylnaftalen	244

## 2.4 A-PAHs v životním prostředí

A-PAHs se do životního prostředí dostávají jako směs spolu s ostatními deriváty a parentními PAHs z antropogenních i přírodních zdrojů. Obecně platí, že hlavním zdrojem emisí PAHs je spalování fosilních paliv za účelem výroby tepla a energie. Druhým nejvýznamnějším zdrojem jsou emise dopravních prostředků, a to především v oblastech s hustou pozemní a leteckou dopravou, a dále také nedokonalé spalování organických materiálů [8].

Alkylované deriváty PAHs jsou hlavní složkou diesellových paliv a benzínů a vznikají při jejich spalování a pyrolýze. Nafta obsahuje především methylované, ale i ethylované naftaleny, fenantreny, dibenzothiofeny a fluoreny. Typ polyaromátů formovaných při pyrolýze silně závisí na teplotě. Při pyrolýze za vysokých teplot a anaerobních podmínek vznikají směsi PAHs s nízkou molekulární hmotností bez alkylových skupin. Při středních teplotách vzniká směs alkylsubstituovaných i nesubstituovaných PAHs. Při nízkých teplotách dochází ke vzniku polyaromátů výrazně pomaleji a převažují alkylované deriváty [4].

A-PAHs deriváty se hojně vyskytují v bitumenu (neboli ropných píscích). Bitumen je viskózní směs vody, písku a surové ropy. Jeho těžbou a zpracováním dochází k významné kontaminaci životního

prostředí. Nejvýznamnější těžební oblasti bitumenu jsou Athabaské ropné písky v Kanadě [5]. K velmi významnému pronikání A-PAHs do mořských ekosystémů dochází při haváriích tankerů s ropou [14].

Antropogenní zdroje mohou být rozděleny na průmyslové a neprůmyslové. Mezi průmyslové zdroje alkylovaných derivátů patří zpracování uhlého dehtu, asfaltu, koksu a sazí. Z neprůmyslových zdrojů je to například cigaretový kouř a spalování odpadů. Přírodními zdroji PAHs jsou lesní požáry, vulkanická činnost (12–14 tun benzo[a]pyrenu za rok). Předpokládá se, že alkylované naftaleny jsou produkty dehydrogenace seskviterpenoidů, alternativou je, že vznikají reakcí  $\beta$ -karotenu. Například reten (1-methyl-7-isopropylfenanthren) je obsažen ve fosilních borovicových kmenech, v rašeliníštích a půdách borovicových lesů [3, 9].

## 2.5 Toxikologie

Alkylované deriváty PAHs jsou stejně jako jejich parentní PAHs a ostatní deriváty PAHs toxikologicky významné sloučeniny. Jsou to všude přítomné kontaminanty, které mohou způsobovat řadu negativních účinků od alergenních po karcinogenní, mutagenní a teratogenní. Lidská populace je těmito látkám exponována mnoha způsoby, například vdechováním kontaminovaného vzduchu a tabákového kouře, pitím kontaminované vody nebo požíváním grilovaných či uzených pokrmů. Karcinogenní účinky PAHs a jejich derivátů jsou způsobeny až jejich metabolickou aktivací cytochromem P-450 na aktivnější metabolity. Nejvíce karcinogenní PAHs metabolity jsou vysoce reaktivní diol epoxidy [15].

Kvůli těmto negativním účinkům byl US EPA vytvořen seznam 16 prioritních PAHs, jejichž koncentrace v životním prostředí je sledována. Mezi těmito 16 prioritními PAHs však není ani jeden alkylovaný derivát. Taktéž je dostupných mnohem méně studií a informací o toxicitě A-PAHs. V současné době se A-PAHs vyskytují v životním prostředí hojněji, jsou více perzistentní a častokrát vykazují i vyšší toxicitu než parentní PAHs [16].

Toxické vlastnosti závisí především na struktuře dané molekuly a to na počtu a postavení kondenzovaných benzenových jader a na počtu substituovaných alkylových skupin [3].

## 2.6 Karcinogenita a mutagenita

Některé A-PAHs mohou stejně jako jejich parentní PAHs vykazovat karcinogenní a mutagenní vlastnosti. Pro zjištění těchto negativních vlastností jsou využívány in-vivo a in-vitro testy. In-vivo testy jsou využívány k identifikaci metabolitů PAHs, které jsou zodpovědné za vytvoření vazby s DNA. In-vitro testy se využívají již k studiu specifických efektů a metabolických drah zkoumaných xenobiotik [3, 17].

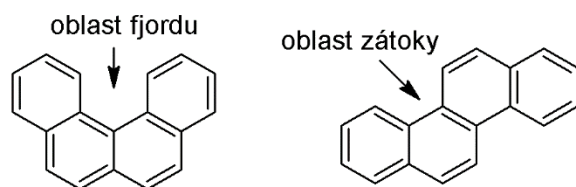
International Agency for Research on Cancer (IARC) rozděluje xenobiotika do pěti skupin dle efektů na člověka. Do skupiny 2B, tedy skupiny, u které jsou možné karcinogenní účinky, je zařazen

pouze 5-methylchrysen. Jeho izomery, 1-methylchrysen, 2-methylchrysen, 3-methylchrysen a 4-methylchrysen jsou zařazeny mezi sloučeniny, které pravděpodobně nevykazují karcinogenitu [18].

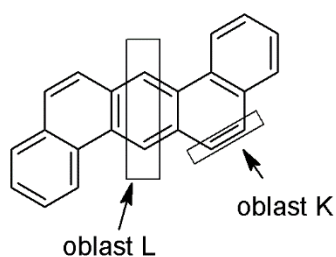
To, zda bude daná sloučenina vykazovat karcinogenní nebo mutagenní vlastnosti, závisí především na její struktuře. I drobná změna ve struktuře může způsobit extrémní rozdíly v karcinogenitě.

Kritériem pro posouzení karcinogenity je počet a postavení jednotlivých benzenových jader v molekule, tedy tvar a velikost molekuly a sterické faktory. PAHs vykazující karcinogenní účinky obsahují 4–6 benzenových jader [8] a ve svém skeletu mají oblast zátoky nebo fjordu [9].

V protilehlé části molekuly (naproti oblasti zátoky nebo fjordu) se nachází tzv. oblast K s vyšší elektronovou hustotou. Další důležitou částí molekuly je dvojice uhlíků na benzenovém jádře v poloze para, tzv. oblast L. Obě tyto oblasti jsou reaktivní, avšak s rozdílnými vlastnostmi produktů. Zatímco epoxidací v K oblasti mohou vznikat silně karcinogenní metabolity, reakce v oblasti L vedou často ke vzniku snadno detoxikovatelných produktů [9].



Obrázek 7: Oblast zátoky a fjordu [19]



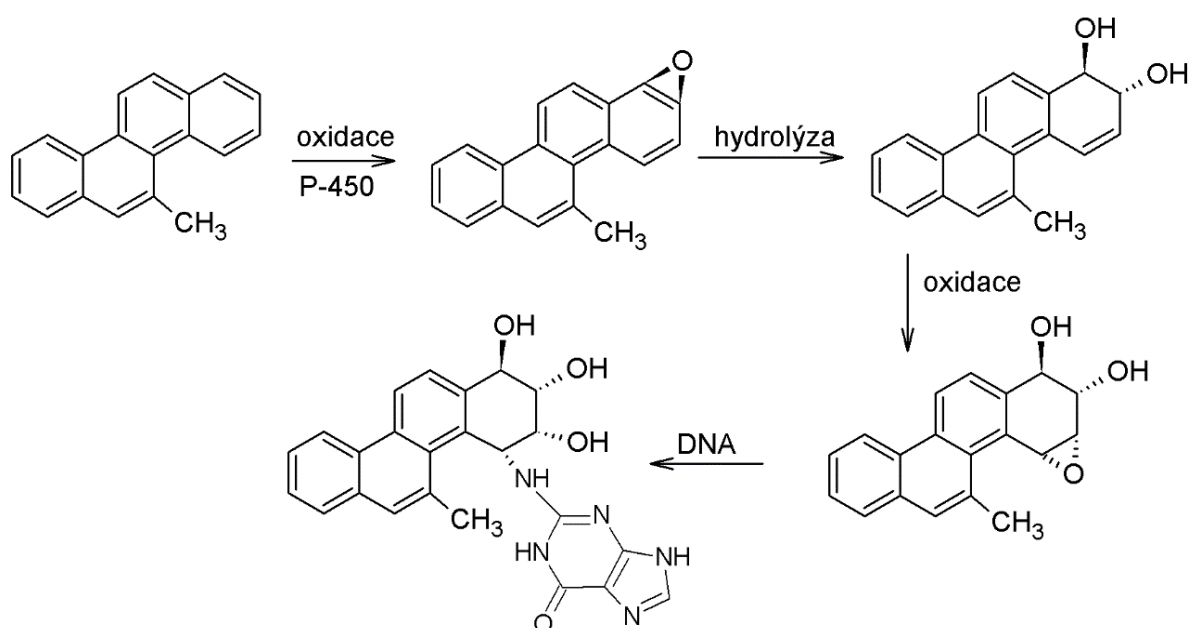
Obrázek 8: K a L oblast [20].

Zavedení alkylové skupiny do parentní molekuly PAHs může výrazně ovlivnit vlastnosti látky. Alkylované PAHs tak mohou být buď silnější karcinogeny, nebo může přítomnost alkylové skupiny karcinogenní vlastnosti úplně zrušit; např. dibenzo[a,i]pyren je silný karcinogen, naopak 5,8-dimethyldibenzo[a,i]pyren je inaktivní. Změny ve vlastnostech jsou způsobeny polohou alkylových skupin navázaných na parentní molekulu a počtem těchto skupin. Alkylová skupina totiž mění hustotu elektronů v molekule, neboť vykazuje kladný mezomerní efekt. Přítomnost alkylové skupiny může způsobovat i výchylky od planarity. Například 7,12-dimethylbenzo[a]anthracen obsahující methylové skupiny v zátokové oblasti je od základní roviny vyhnutý o 22° a izomer 1,12-DMBA je vyhnutý dokonce o 36° [4, 8, 9].

Samotné PAHs a A-PAHs se nevážou na DNA přímo, vysoce reaktivní a schopny vázat se na DNA jsou jejich některé metabolity. V dalším odstavci bude popsán mechanismus metabolické aktivace 5-methylchrysenu, který je obsažen v cigaretovém kouři a vykazuje karcinogenní účinky [4, 8, 11].

Tabulka 3: Složení cigaretového kouře [21].

PAH	Obsah PAH [ng/cigareta]
naftalen	350,3
fluoren	217,5
fenanthren	134,8
anthracen	74,9
pyren	48,6
chrysen	15,7
benzo[a]pyren	10,3
5-methylchrysen	2,5



Obrázek 9: Metabolická aktivace 5-methylchrysenu [22].

S účastí cytochromu P 450, který je přítomný v endoplazmatickém retikulu buněk, je 5-methylchrysen oxidován na epoxid. V dalším kroku je tento metabolit přeměněn na trans-dihydrodiol, který dále podléhá epoxidaci za vzniku ultimativního karcinogenu trans-diolepoxidu. Tato molekula poté může reagovat s bázemi nukleových kyselin a vytvářet s nimi kovalentní vazbu. Nejsilnějšími karcinogeny jsou metabolity trans-diolepoxidy v zátokové oblasti. Další významnou metabolickou drahou je jednoelektronová oxidace vedoucí ke vzniku radikálových kationtů schopných se opět kovalentně vázat na báze [3].

## 2.7 Osud A-PAHs v životním prostředí

Rozvoj průmyslu, těžba ropy, vysokoteplotní spalování fosilních paliv, využívání dopravních prostředků a mnoho dalších antropogenních činností narušilo přírodní rovnováhu vzniku a degradace PAHs v přírodě. Od epochy průmyslové revoluce konstantně narůstá koncentrace těchto látek ve složkách životního prostředí. V současné době jsou A-PAHs všudypřítomné polutanty životního prostředí.

### 2.7.1 A-PAHs v atmosféře

A-PAHs se dostávají do atmosféry ve směsi s ostatními deriváty a parentními PAHs. Většina A-PAHs má stejně jako parentní PAHs tendenci se adsorbovat na různé druhy aerosolů. Pokud se jedná o těkavější A-PAHs, mohou existovat i v plynné fázi. Z atmosféry se mohou A-PAHs dostat na zemský povrch pomocí suché a mokré depozice. Mohou být transportovány a dispergovány v důsledku pohybů vzdušných mas nebo může docházet k jejich degradaci chemickými a fotochemickými reakcemi, z nichž nejvýznamnějšími jsou fotooxidace a fotodimerizace. Při fotodimerizaci anthracenu a jeho derivátů vznikají meso-regionové 4 + 4 cykloadukty a reakce je zvýhodněna přítomností methylových skupin v meso-regionu. Fotooxidace probíhá při vystavení PAHs vzduchu a slunečnímu záření. Při fotooxidaci vznikají endoperoxidy, ze kterých mohou vznikat až chinony. Opět platí, že fotooxidace je zvýhodněna přítomností methylových skupin v meso-regionu. Například potenciální karcinogen 7,12-dimethylbenzo[a]anthracen a jeho aktivovaný metabolit 7,12-dimethylbenzo[a]anthracen-3,4-t-dihydrodiol podléhají velmi snadno fotooxidaci za vytvoření epoxidů. Tyto reakce mohou být ovlivněny řadou faktorů, jako je např. intenzita světla, koncentrace ostatních polutantů ( $\text{NO}_x, \text{SO}_x$ ), nebo vlastnosti částic, na kterých jsou A-PAHs adsorbovány [9].

### 2.7.2 A-PAHs ve vodách a sedimentech

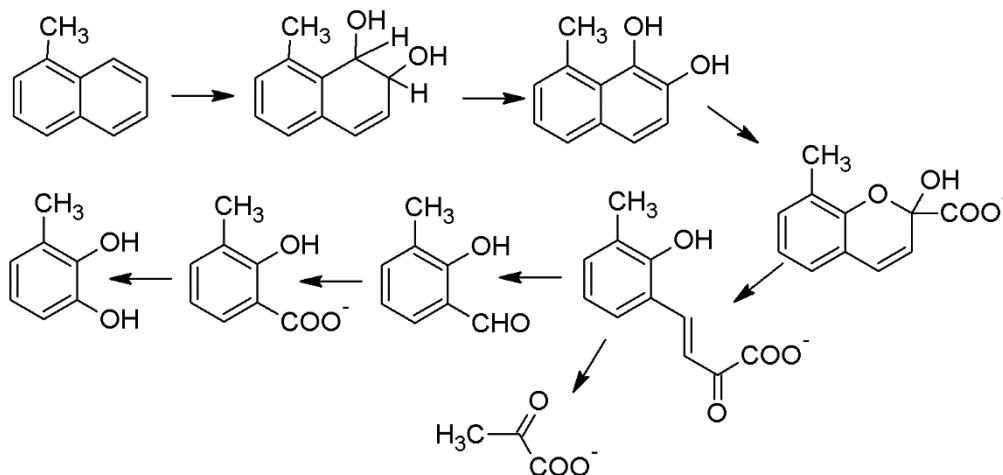
Největší množství A-PAHs se do povrchových vod dostává mokrou depozicí. Mezi další zdroje patří výtoky odpadních vod z průmyslu, havárie tankerů převážejících ropu, splachy z těžebních ploch ropných písků a dopravních komunikací. Některé PAHs v sedimentech mohou být syntetizovány mikroorganismy nebo rostlinami [9].

Kvůli velmi nízké rozpustnosti A-PAHs ve vodě se téměř nevyskytují volně a významné množství A-PAHs se usazuje v sedimentech, kde jsou tyto sloučeniny velmi stabilní a jejich rychlost degradace fyzikálně-chemickými procesy je nízká. Může zde docházet k degradaci anaerobními organismy. Pokud se A-PAHs neusadí v sedimentech, může docházet k jejich odpařování zpět do atmosféry, oxidaci nebo biodegradaci a biokoncentraci ve vodní biotě. Fotodekompozice A-PAHs ve vodách závisí na hloubce, ve které se vyskytují, na síle slunečního záření, okolní teplotě a obsahu rozpuštěného kyslíku [9].

Kritická situace kontaminace mořského ekosystému vysokými koncentracemi A-PAHs nastala například v roce 2006, kdy havaroval tanker Solar 1 u ostrova Guimaras. I přes odstraňování olejové skvrny se velké množství sloučenin usadilo v dnových sedimentech a docházelo k akumulaci A-PAHs v tělech mořských živočichů, především těch, kteří žijí bezprostředně u dna, jako jsou některé druhy měkkýšů a korýšů. Vysoká kontaminace A-PAHs ve vodách je i v Albertě (Kanada) v důsledku těžby ropných písků [7, 14].

### 2.7.3 A-PAHs v půdě

Do půd se A-PAHs opět dostávají suchou a mokrou depozicí, vylitím olejů a další antropogenní činností. V půdě se mohou A-PAHs vázat na organické podíly a tím se stávají imobilní. O schopnosti látky vázat se na organický materiál v půdě (ale i v sedimentech) nás informují hodnoty půdního adsorpčního koeficientu  $K_{oc}$ , který roste od nízkomolekulárních k vysokomolekulárním A-PAHs. A-PAHs se mohou také bioakumulovat v půdních organismech, jako jsou například žížaly. Bylo zjištěno, že schopnost bioakumulace některých A-PAHs je vyšší než prioritních 16 PAHs. V půdách může docházet k biodegradaci díky organismům majícím enzymy, které dokážou štěpit vazby v A-PAHs a jsou schopny tyto sloučeniny využívat jako zdroj energie. Biodegradace těmito organismy závisí na faktorech prostředí (teplota, pH, obsah kyslíku,...) a je mnohem pomalejší než degradace v atmosféře. Organismy degradující A-PAHs jsou dvojího typu. První typ mikroorganismů má enzymy napadající aromatický kruh a druhý typ enzymy napadající postranní řetězce. Na obrázku 10 je znázorněna metabolická přeměna 1-methylnaftalenu na 3-methylbenzen-1,2-diol mikroorganismem *Pseudomonas Putida* CSV86 [22, 23].



Obrázek 10: Metabolická přeměna 1-methylnaftalenu [22].

## 2.8 Využití A-PAHs k určení původu kontaminace

PAHs se do životního prostředí dostávají vždy jako směs, jejíž složení a koncentrační poměry jednotlivých složek jsou pro daný proces charakteristické. Na tomto faktu je založena metoda diagnostických poměrů využívaná k identifikaci potenciálního zdroje emitovaných PAHs.

Většina diagnostických poměrů je založena na poměru PAHs se stejnou molekulovou hmotností a podobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Z těchto důvodů jsou nejvhodnějšími látkami izomery PAHs (například anthracen a fenantren).

Pro výpočet diagnostických poměrů se využívá vzájemných poměrů parentních PAHs, ale i poměrů alkylsubstituovaných PAHs k parentním. Koncentrační poměr je poté porovnán s již zjištěnými poměry PAHs z různých zdrojů [24]. Například parentní PAHs s molekulovou hmotností 178 (anthracen) a 202 (fluoranthren) jsou obvykle využívány pro rozlišení mezi pyrogenními a petrogenními zdroji. Z alkylovaných derivátů se využívají např. dimethylfenantreny (DMP), které se vyskytují v uhlí, kerogenu, surové ropě a bitumenu. Poměr 1,7-DMP ku 2,6-DMP na částicích obsažených v atmosféře je citlivým indikátorem pro rozlišení emisí vzniklých spalováním dřeva a emisí motorových vozidel [25].

Tabulka 4: Příklady využití DMP [25].

Zdroj	1,7-DMP/(2,6+1,7-DMP)
Spalování dubového dřeva	0,71
Spalování borovicového dřeva	0,9
Spalování hnědého uhlí	0,62

Tabulka 5: Příklady diagnostických poměrů využívající A-PAHs a PAHs [24].

PAHs	poměr	zdroj
anthracen/(anthracen+fenantren)	<0,1	Petrogenní původ
	>0,1	Pyrogenní původ
fluoranthren/(fluoranthren+pyren)	<0,4	Petrogenní původ
	0,4–0,5	Spalování fosilních paliv
	>0,5	Spalování trávy, dřeva uhlí
benzo[a]anthracen/benzo[a]anthracen+pyren	0,2–0,35	Spalování uhlí
	>0,35	Emise dopravních prostředků
reten/(reten+chrysen)	~1	Spalování dřeva
2-methylnaftalen/fenantren	<1	Spalování paliv
methylfenantren/fenantren	<1	Spalování benzínu
	>1	Spalování nafty

## 3 Analýza A-PAHs

### 3.1 Vzorkování

Metody odběru vzorků z různých přírodních matric lze obecně rozdělit do dvou skupin, odběry bodové a pasivní vzorkování. Bodovým odběrem rozumíme odběr vzorku v určitém čase a na určitém místě. Tento typ odběrů je konvenčně využíván, avšak přináší s sebou určité nedostatky. Vzorky získané z bodových odběrů neposkytují informaci v dlouhodobějším horizontu a reprezentují pouze stav v okamžiku odběru. Mezi další nevýhody patří například nutnost manipulace s poměrně velkým objemem vzorku nutným pro stopovou analýzu. Nedostatkům bodových odběrů se lze v některých případech vyhnout využitím metod pasivního vzorkování. Pasivní vzorkování je metoda vzorkování složek životního prostředí, při které je vhodně zvolené vzorkovací zařízení exponováno ve sledované lokalitě po dobu určenou uživatelem. Po expozici je zařízení pasivního vzorkovače deinstalováno a transportováno do laboratoře. Během expozice není zařízení pasivního vzorkovače závislé na vnějším zdroji energie a nevyžaduje ani zásah operátora. Mezi hlavní výhody pasivního vzorkování patří vysoká citlivost pro specifické kontaminanty, vzorkování biodostupné frakce, zohlednění náhodných změn v koncentraci polutantu v čase (časově vážené neboli integrativní vzorkování), zakoncentrování sledovaných látek *in-situ*, možnost uchování vzorku pro pozdější analýzu a v neposlední řadě také komerční dostupnost [26, 27].

#### 3.1.1 Odběr vzorků ovzduší

PAHs jsou semivolatilní látky a v atmosféře jsou přítomny buď pouze v plynné fázi (především lehčí, těkavější PAHs, např. naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren), nebo z části v plynné fázi a z části vázané na polétavém prachu (fenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren, benzo[a]anthracen, chrysen), případně pouze vázané na pevných částicích (benzofluorantheny a vyšší PAHs). Z tohoto důvodu využíváme zařízení prosávající vzduch čerpadlem přes odběrová média, ve kterých jsou použity obvykle dva druhy filtrů zařazených sériově. První ze dvojice filtrů zachytává částice prachu o velikosti  $> 0,5 \mu\text{m}$ , na nichž jsou sorbovány málo těkavé a netěkavé PAHs. Tyto filtry jsou zhotoveny z křemenných či skelných mikrovláken, jejichž povrch bývá silanizován, aby bylo zabráněno sorpci na aktivních centrech. Další alternativou může být membránový teflonový filtr. Na druhém filtru, zhotoveném z polyurethanové pěny nebo pryskyřice XAD-2, jsou sorbovány lehčí PAHs z plynné fáze. Objem odebraného vzduchu se pohybuje v rozsahu  $10\text{--}10^3 \text{ m}^3$ , typický je odběr  $2500 \text{ m}^3$  vzduchu za 24 hodin, při kterém se zachytí na filtru o ploše  $400 \text{ cm}^2$  přibližně  $0,25 \text{ g}$  částic. V současnosti se však při odběrech vzduchu dává přednost kratším odběrům do 1 hodiny tak, aby nedocházelo k nežádoucím reakcím s  $\text{NO}_2$  či  $\text{O}_3$ . Při odběru PAHs je třeba počítat s tím, že se v ovzduší mohou vyskytovat i jiné

organické polutanty, např. PCBs, které budou společně s PAHs zachyceny na filtrech. Po skončení odběru se zaznamená objem vzduchu prosátého zařízením, meteorologické podmínky (např. teplota, rychlost a směr větru, atmosférický tlak, intenzita slunečního záření, srážky). Exponované filtry se zabalí do hliníkové folie, aby bylo zabráněno fotolýze, a jsou umístěny do vzduchotěsné nádoby. Současně s exponovanými filtry skladujeme i neexponované filtry, které dále slouží k slepému stanovení [28, 29].

Pro pasivní vzorkování PAHs z ovzduší se nabízí několik možných zařízení a to především SPMDs (Semipermeable Membrane Devices), vzorkovač typu POG (Polymer-coated Glass) a PUF Sampler.

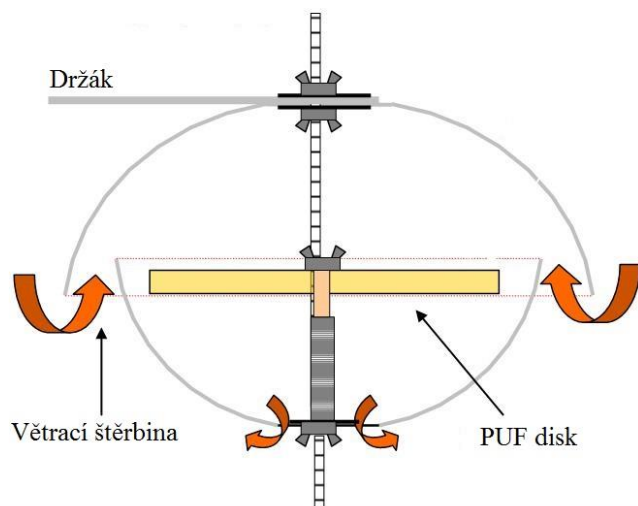
### **3.1.1.1 Vzorkovače se semipermeabilní membránou (SPMDs)**

SPMDs byly původně určeny k pasivnímu vzorkování lipofilních, persistentních organických látek z vod, v současné době se však už využívají i pro pasivní vzorkování polutantů z ovzduší a v omezené míře i pro vzorkování polutantů z půd.

Základem SPMD je plochá trubice z polyethylenu o nízké hustotě bez aditiv. Ve standardním uspořádání je šířka trubice 2,5 cm a délka trubice obsahující náplň 84 cm, tloušťka stěny je přibližně 75–90  $\mu\text{m}$ . Před plněním je LDPE trubice přečištěna buď dialýzou, nebo Soxhletovou extrakcí. Do trubice je pak nadávkován 1 ml vysoce čistého trioleinu a konce trubice jsou uzavřeny dvěma sváry. Takto připravený vzorkovač je upevněn do ochranného nerezového koše nebo do držáků specifických pro vzorkované prostředí. Doba expozice se pohybuje v rozmezí 2–8 týdnů, po ukončení vzorkování je exponovaný vzorkovač přepraven ve vzorkovnici za snížené teploty do laboratoře. Pro uvolnění zachycených analytů se obvykle využívá dialýza, exponované vzorkovače jsou ponořeny do roztoku rozpouštědla na 48 hodin, přičemž je nutné po 24 hodinách vyměnit rozpouštědlo. Nejčastěji využívanými rozpouštědly pro tyto účely jsou hexan nebo cyklopentan. Dialyzát poté obsahuje pouze organické polutanty a malé množství lipidu [29].

### **3.1.1.2 PUF Sampler**

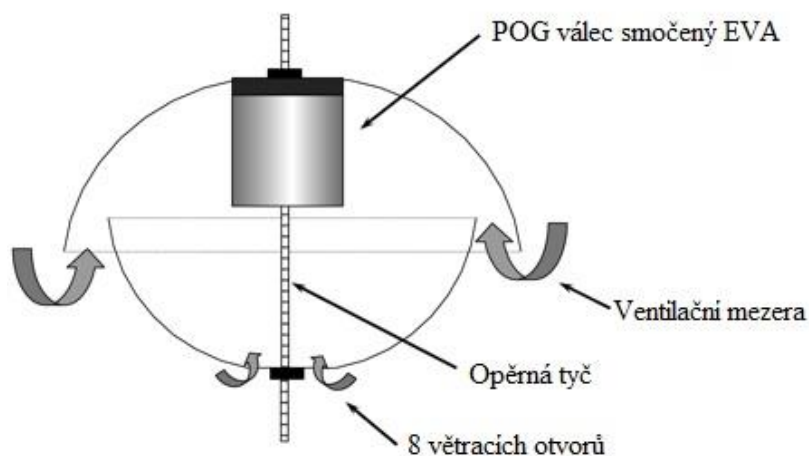
Pasivní vzorkovač ovzduší s diskem z polyurethanové pěny neboli PUF Sampler je vhodný k monitorování PAHs a ostatních persistentních organických polutantů. Vzorkování se uskutečňuje spontánní difuzí analytu do sběrného média – polyurethanové pěny. PUF Sampler se skládá ze dvou nerezových misek, z nichž jedna je větší o průměru 30 cm a druhá menší o průměru 24 cm. Obě tyto misky jsou spojeny vertikální osou a mezi nimi je na ose umístěn PUF disk. Toto zařízení se ve vzorkované oblasti zavěsí do výšky 1,5–2,0 m a je ponecháno exponovat [30].



Obrázek 11: Pasivní vzorkovač s PUF diskem [30].

### 3.1.1.3 POG

Pasivní vzorkovač typu POG má podobnou konstrukci jako PUF Sampler s tím rozdílem, že místo PUF disku je zde dutý skleněný válec potažený tenkým filmem ethylvinylacetátu (EVA) [30].



Obrázek 12: Pasivní vzorkovač typu POG [31].

## 3.1.2 Odběr vzorku vody

Při odběru vzorku vody se musí dbát na to, aby byl získaný vzorek reprezentativní. Hodnoty difuzních koeficientů jsou přibližně o čtyři řády nižší, než ve vzduchu, z toho plyne, že sledovaný analyt nemusí být obsažen rovnoměrně v celém sledovaném objemu. Nižší PAHs se ve vodě mohou vyskytovat rozpuštěné, s rostoucím počtem jader rozpustnost ve vodě prudce klesá a vyšší PAHs jsou pouze sorbované na suspendovaných částicích nebo jsou kumulovány v sedimentech na dně. V povrchových a zvláště odpadních tocích může být rozpustnost PAHs a jejich derivátů zvýšena přítomností ostatních kontaminujících látek, např. tenzidů nebo rozpouštědel.

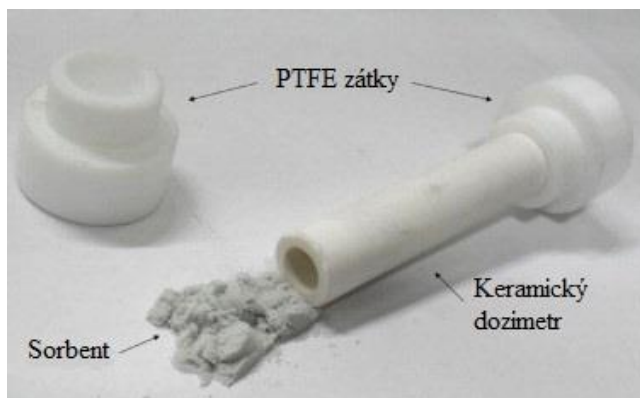
Prostý bodový odběr se provádí pomocí průtočné válcovité nádoby, která má z obou stran uzavíratelná víka. Otevřená vzorkovnice se pomocí cejchovaného lana spustí do požadované hloubky a

následně je uzavřena oběma víky. Získaný vzorek je uchován ve skleněné vzorkovnici z hnědého skla a co nejdříve umístěn do lednice. Je vhodné používat skleněné vzorkovnice se silanizovaným povrchem, aby nedocházelo k sorpci analytu na stěnách nádoby.

Pro pasivní vzorkování A-PAHs z vod je také možné využít pasivní vzorkovače, jako jsou například SPMDs, Membrane-Enclosed Sorptive Coating (MESCO), nebo keramický dozimetr naplněný vhodným sorbentem.

### 3.1.2.1 Keramický dozimetr

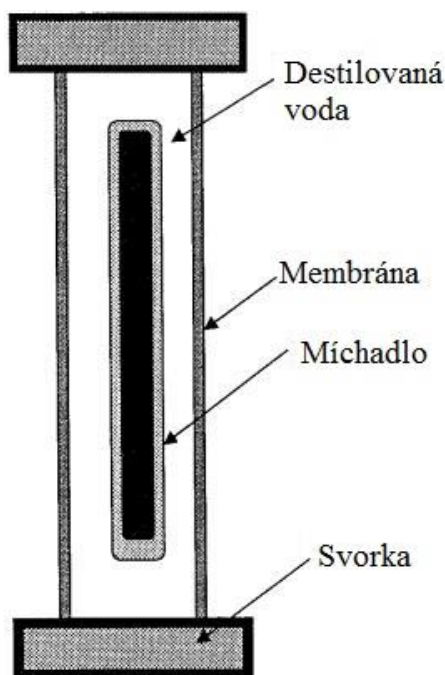
Keramický dozimetr se skládá z dutého keramického válce vyrobeného z oxidu hlinitého ( $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ), potaženého vrstvičkou oxidu titaničitého ( $\text{TiO}_2$ ) o tloušťce 5  $\mu\text{m}$ . Délka válce je 5 cm, vnější průměr 1 cm a šířka stěny 2 mm. Válec je naplněn přibližně 0,6 g vhodného sorbentu a z obou stran uzavřen zátkami z PTFE [32].



Obrázek 13: Keramický dozimetr [32].

### 3.1.2.2 MESCO

Membrane Sorptive Coating neboli MESCO je pasivní vzorkovač složený z vaku vyrobeného z regenerované celulózy naplněného MilliQ vodou a míchadélka Twister (využívaného též pro Stir Bar Sorptive Extraction – SBSE), které se v tomto vaku volně pohybuje a slouží jako fáze přijímající polutant. Vak z regenerované celulózy je na obou koncích uzavřen a funguje jako polopropustná membrána [33].



Obrázek 14: MESCO [33].

### 3.1.3 Odběr vzorku půdy

Půda představuje značně heterogenní materiál s omezenou migrací složek, a tak může být sledovaný analyt distribuován v monitorované lokalitě zcela nepravidelně, a to jak horizontálně, tak i vertikálně. Vzorkování půdy tedy představuje nejobtížnější krok celé analýzy, neboť v celém heterogenním systému sledujeme pouze stopová množství kontaminantů, jejichž koncentrace závisí i na typu půdy, rozpustnosti dané látky ve vodě a mikrobiální aktivitě v půdě. Při plánování odběru vzorků půdy je nutné vhodně zvolit vzorkovací lokalitu a počet, velikost a rozmístění jednotlivých vzorků.

Při bodových odběrech půd odebíráme vzorky pomocí upravených rýčů, spirálových vrtáků nebo trubkových vzorkovačů. Hloubka odběru je obvykle kolem 15–25 cm s ohledem na typ analytu, typ půdy a způsobu obdělávání dané lokality [28].

Pro pasivní vzorkování půd je možné využít SPMD. Vzorkovač je zakopán do hloubky 10 až 20 cm. Aby nedošlo k poškození membrány, je vhodné ji chránit překrytím látkou nebo ochranným pletivem. Obvyklá délka expozice je 2–8 týdnů [29].

## 3.2 Izolační metody

Po odběru vzorku je nutné pro následující analýzu analyt extrahovat z matrice a zároveň tím sledované látky prekoncentrovat, tak aby jejich koncentrace byla nad mezí detekčního limitu chromatografického přístroje (Instrumental detection limit, IDL). Vhodnou extrakční techniku volíme podle skupenství odebraného vzorku a povahy sledovaného analytu. Ideální metoda extrakce by měla být rychlá, jednoduchá, levná a kvantitativní, bez ztráty a degradace analyzovaných látek.

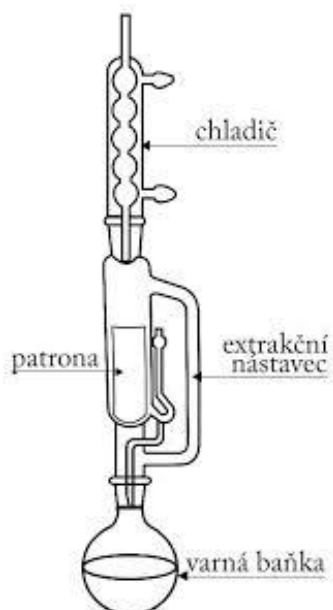
## 3.2.1 Extrakce tuhých vzorků

Při odběru vzorků z ovzduší jsou na prvním filtru zachyceny prachové částice, na nichž jsou adsorbovány těžší PAHs, a na druhém filtru z polyurethanové pěny (PUF) jsou adsorbovány lehčí PAHs. Z obou filtrů můžeme sledované analyty získat například extrakcí v Soxhletově extraktoru. Tento typ extrakce je však časově velmi náročný a spotřeba rozpouštědel je vysoká. Z těchto důvodů se v současné době dává přednost modernějším typům extrakce, které jsou v porovnání s extrakcí v Soxhletově extraktoru rychlé a spotřeba rozpouštědel je výrazně nižší. Mezi nejrozšířenější techniky patří tlaková extrakce rozpouštědlem (PSE, Pressurised Solvent Extraction, též ASE – Accelerated Solvent Extraction, případně PLE – Pressurized Liquid Extraction), mikrovlnná extrakce (MAE, Microwave Assisted Extraction) a superkritická fluidní extrakce (SFE, Supercritical Fluid Extraction). Tyto metody jsou vhodné i pro izolaci sledovaných analytů ze vzorků půdy, sedimentů, potravin a dalších tuhých matic.

### 3.2.1.1 Extrakce v Soxhletově extraktoru

Soxhletův extraktor se skládá ze tří hlavních částí, varné baňky, extrakčního nástavce s patronou a chladiče. Tuhý vzorek je umístěn v patroně, která je buď z papíroviny, nebo se jedná o skleněný váleček s fritou místo dna. Ve varné baňce se udržuje rozpouštědlo při bodu varu a jeho páry prostupují postranní trubicí až do chladiče, kde kondenzují. Zkondenzované rozpouštědlo skapává do patrony a extrahuje rozpustné komponenty z tuhé matrice. Jakmile se patrona celá naplní, rozpouštědlo s vyextrahovanými látkami přeteče přepadovou trubičkou zpět do varné baňky. Tyto cykly se neustále opakují a ve varné baňce se shromažďují vyextrahované látky, jejichž bod varu je vyšší než bod varu použitého rozpouštědla.

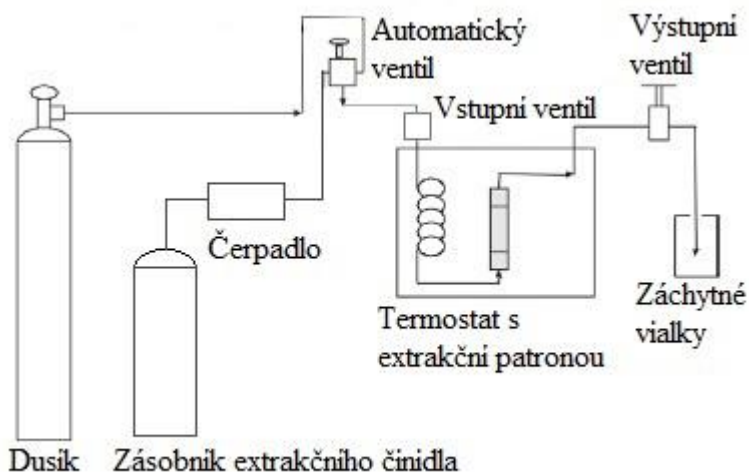
Volba rozpouštědla závisí na vlastnostech látek, které mají být vyextrahovány. Protože PAHs jsou látky málo rozpustné ve vodě, volí se obvykle nepolární rozpouštědla (benzen, toluen) a směsi těchto rozpouštědel s polárnějšími, jako jsou např. methanol, ethanol, nebo isopropanol. Podíl polárnějšího rozpouštědla zvyšuje výtěžnost extrakce, zároveň však stoupá i obsah koextrahovaných látek v extraktu. Oblíbeným a účinným extrakčním činidlem je rovněž dichlormethan. Aby nedocházelo k rozkladu fotolabilních PAHs, doporučuje se aparaturu chránit před světlem a to zabalením aparatury do hliníkové fólie. Objem potřebných čistých rozpouštědel je při této metodě extrakce vysoký, pohybuje se až ve stovkách ml, z toho plynou vysoké finanční náklady. Čas potřebný pro extrakci je až 24 hodin [24].



Obrázek 15: Extraktor Soxhlet [34].

### 3.2.1.2 Tlaková extrakce rozpouštědlem

Tlaková extrakce rozpouštědlem (PSE, Pressurized Solvent Extraction) je metoda využívaná pro extrakci semivolatilních organických sloučenin z pevných matric. PSE probíhá za vyšších teplot (50 až 200 °C) a vysokých tlaků (10–15 MPa), při kterých dochází k lepšímu rozpouštění analytu, snížení povrchového napětí a viskozity rozpouštědla. Schéma základního typu extraktoru PSE je uvedeno na obrázku 16.



Obrázek 16: Schéma PSE [35].

Pro izolaci PAHs z pevných matric je nutné vzorek vhodně připravit, zvolit vhodné rozpouštědlo a optimalizovat podmínky, za kterých extrakce proběhne, aby byla výtěžnost sledovaného analytu co nejvyšší.

#### **3.2.1.2.1. Vliv přípravy vzorku**

Rozmělněním vzorku docílíme lepší extrakce z pevné matrice do rozpouštědla. Velmi důležité je také vysušení vzorku, neboť vlhkost vzorku může snižovat účinnost extrakce. Sušení může probíhat při laboratorní teplotě, nebo může být ke vzorku přidáno vhodné dehydratační činidlo.

#### **3.2.1.2.2. Vliv rozpouštědla**

Extrakční rozpouštědlo je voleno tak, aby co nejlépe extrahovalo sledované analyty a zároveň minimalizovalo koextrakci nežádoucích látek ze vzorku. Vhodné je volit rozpouštědlo tak, aby bylo slučitelné s rozpouštědly použitými v následujících krocích. Polarita rozpouštědla by měla být podobná polaritě extrahovaných látek. Pro extrakci PAHs se volí rozpouštědla nepolární nebo směsi nepolárních s mírně polárními. Mezi nejvyužívanější patří dichlormethan, dichlormethan/aceton (1:1), dichlormethan/methanol (90:10), dichlormethan/aceton (1:1), aceton/hexan (1:1) a další [36].

#### **3.2.1.2.3. Vliv teploty, tlaku a doby extrakce**

Teplota i tlak významně ovlivňuje účinnost extrakce. Obecně platí, že zvýšením teploty docílíme zlepšení pronikání extrakčního rozpouštědla, zvýšení rychlosti difúze a desorpce analytu z matrice do rozpouštědla. Vyšší tlak udržuje rozpouštědlo při vyšších teplotách v kapalném stavu. Doba extrakce se pohybuje mezi 5–10 minutami. Vyšší účinnost extrakce je dosažena při kratších extrakcích v několika krocích [37].

### **3.2.1.3 Mikrovlnná extrakce**

Mikrovlnná extrakce (MAE, Microwave Assisted Extraction) slouží pro extrakci sledovaných analytů z pevných matric jako jsou vzorky půdy, sedimentů nebo některých druhů potravin. Analyty jsou extrahovány pomocí horkých rozpouštědel ohříváných mikrovlnami v MAE extraktoru. Ve srovnání s extrakcí Soxhletově extraktoru je při MAE zapotřebí mnohem menší objem čistého rozpouštědla (10–25 ml) a zároveň i kratší doba extrakce (10 minut), čímž jsou sníženy provozní náklady této metody [29].

Při extrakci PAHs z pevných matric se nadávkuje několik gramů vzorku a 10–25 ml rozpouštědla do extrakční patrony, která je vložena do přístroje. Pro PAHs je možné využít například směs rozpouštědel aceton a n-hexan v poměru 1:1. MAE může pracovat buď v otevřeném systému za atmosférického tlaku nebo v systému uzavřeném, kde je možnost pracovat i při vyšším tlaku. Po proběhnutí extrakce v termostatu je nutné extrakční patronu nechat zchladnout. Při tomto procesu může docházet k nežádoucí readsorpci látek do matrice, a tím až k 30 % ztrátám analytu. Po ochlazení patrony je nutné oddělit extrakt od matrice, což představuje další separační krok a možnost ztrát [29].

### 3.2.1.4 Superkritická fluidní extrakce SFE

Při superkritické fluidní extrakci je jako extrahovadlo využívána tekutina v nadkritickém stavu. Mezi výhody tekutiny v nadkritickém stavu patří zvýšená rozpouštěcí schopnost, nižší viskozita, vyšší difuzivita oproti kapalinám a téměř nulové povrchové napětí umožňující tekutině vnikat do pórů matrice. Nejčastěji využívaným extrahovadlem je oxid uhličitý, který je netoxický, nehořlavý, inertní, dostupný ve vysoké čistotě za přijatelnou cenu a také jeho kritický bod je poměrně snadno dosažitelný (31 °C, 7,38 MPa). Největší nevýhodou CO<sub>2</sub> je jeho nízká polarita a samotný je tak nevhodný pro polárnější analyty. Pro extrakci polárnějších analytů hraje klíčovou roli přídavné rozpouštědlo neboli modifier, který zvýší rozpustnost daného analytu. Mezi nejběžnější modifikery patří methanol, ethanol, acetonitril, kyselina mravenčí a octová, chloroform, dichlormethan, benzen a další. Sledovaný analyt je po vyextrahování jímán ve vhodném rozpouštědle nebo zachytáván na sorbentu [29].

Tato metoda extrakce se ukázala být vhodná jak pro parentní PAHs, tak i pro jejich deriváty ve vzorcích půdy. Pro vysokou výtěžnost metody je nutná optimalizace zařízení zahrnující volbu vhodného modifikery a jeho procentuální zastoupení, nastavení optimální rychlosti průtoku CO<sub>2</sub>, teploty, tlaku a délky extrakčního procesu.

Pro PAHs a jejich deriváty se ukázalo výhodné následující nastavení: modifier 10% dichlormethan (DCM), rychlost průtoku CO<sub>2</sub> 1 ml/min, délka extrakce 15 min, teplota 40°C, tlak 30 MPa a zachycení analytu na uhlíkových vláknech [38].

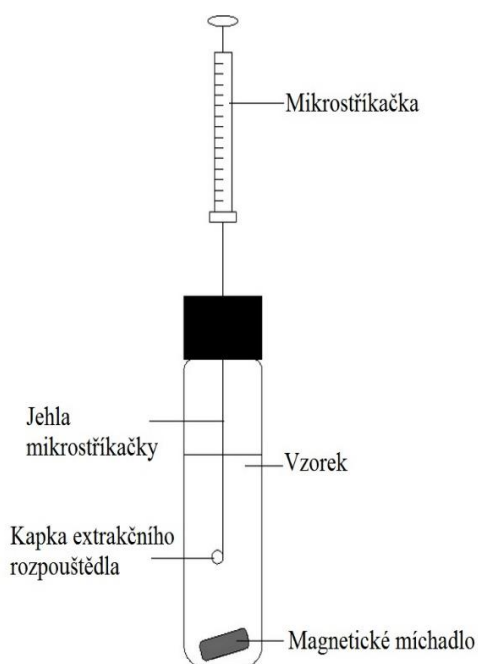
## 3.2.2 Extrakce kapalných vzorků

Při odběru vzorků vod je nutné provést filtraci přes teflonový filtr s velikostí pórů  $\leq 1 \mu\text{m}$ . Tuhá fáze zadržena na filtru se extrahuje stejnými technikami jako prachové částice, zatímco sledované analyty z filtrátu se izolují buď extrakcí kapalina–kapalina, nebo tuhým sorbentem metodou SPE (Solid Phase Extraction).

### 3.2.2.1 Extrakce kapalina–kapalina

Jedná se o klasickou metodu, kdy je kapalný vzorek jednou až třikrát protřepáván s vhodným extrakčním rozpouštědlem. Rozpouštědlo volíme tak, aby se nemísilo s matricí, sledované analyty v něm byly dobře rozpustné a stabilní, jeho čistota byla vysoká, aby nedocházelo ke kontaminaci vzorku. Dříve se tato extrakce prováděla třepáním dělicí baňky v ruce, v současné době se spíše využívají laboratorní třepačky.

Modernější metodu extrakce kapalina–kapalina představuje mikroextrakce kapkou rozpouštědla (SDME, Single Drop Microextraction), která se uplatňuje při analýzách PAHs i polychlorovaných bifenyly (PCBs) a dalších analytů nepolárního typu. Výhodou této metody je minimalizace objemu použitého rozpouštědla [29].



Obrázek 17: Mikroextrakce kapkou rozpouštědla [39].

### 3.2.2.2 Extrakce tuhou fází SPE

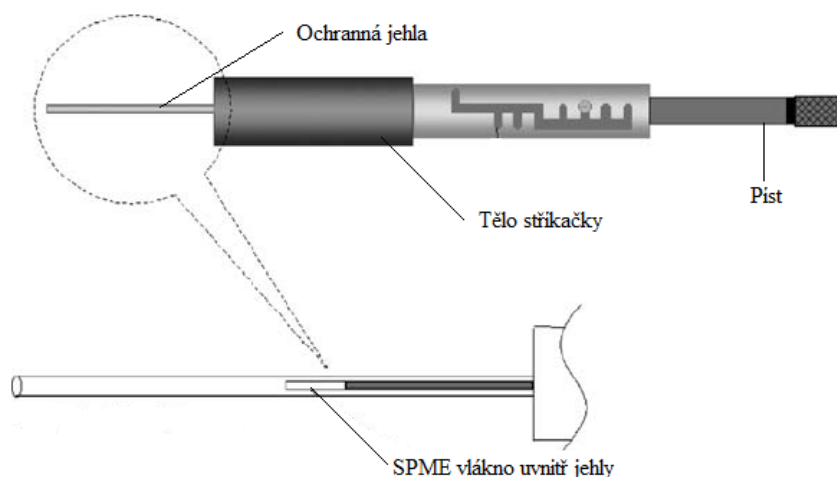
Extrakce tuhou fází se stala jednou z nejužívanějších metod v moderních laboratořích. Její provedení spočívá v prolití vzorku kolonkou naplněnou vhodným sorbentem. V současné době je na trhu široký výběr rozměrů kolonek a sorbentů. Vedle klasických sorbentů na bázi silikagelu a jeho modifikovaných forem se využívají i nové typy polymerních sorbentů na bázi styren-divinylbenzenu, akrylesteru a

dalších. V porovnání se silikagelem mohou být polymerní sorbenty využívány v širším rozsahu pH, u některých není nutný ani proces kondicionace, neprojevuje se u nich silanolová aktivita a s ní související retenční mechanismy, množství sorbentu potřebného pro extrakci je nižší a rozšiřuje se i škála látek, které je možné extrahovat [29].

### 3.2.2.3 Mikroextrakce tuhou fází

Nespornou výhodou mikroextrakce tuhou fází (SPME, Solid Phase Microextraction) je absence organického rozpouštědla. Sledované analyty se sorbují na vlákne potaženém polymerní vrstvou sorbentu. Konstrukcí zařízení připomíná stříkačku s injekční jehlou. Ocelová jehla slouží jako ochranný obal pro křehké křemenné vlákno, které může být pokryto například polydimethylsiloxanem (PDMS), polyakrylátem, divinylbenzenem s Carbowaxem a kombinací těchto materiálů.

Volbou vhodného materiálu můžeme do jisté míry nastavovat selektivitu pro určité skupiny analytů a tím je separovat od ostatních skupin interferentů. Další výhodou SPME je možnost on-line spojení s plynovou chromatografií, při které jsou sledované analyty z vlákna uvolněny tepelnou desorpcí, nebo on-line spojení s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií, při které se analyt z vlákna převede do rozpouštědla [29, 39].



Obrázek 18: SPME [40].

## 3.3 Přechištění

Po vyextrahování analytu je v mnoha případech nutné získaný extrakt ještě přechistit vhodně zvolenou separační metodou od koextrahovaných látek. Tyto látky by mohly interferovat a výrazně zkomplikovat chromatografickou analýzu. K těmto účelům je nejčastěji využíváno čištění na vhodném sorbentu, méně často pak reextrakce do jiného rozpouštědla. Čištění extraktu pomocí kyseliny sírové nebo jiného činidla patří do tzv. destruktivních metod, při kterých může dojít i k nežádoucímu rozkladu analytu. Mezi nedestruktivní metody řadíme gelovou permeační chromatografii a sloupcovou chromatografii.

Při analýzách PAHs z živočišných tkání je problematické tyto látky oddělit od koextrahovaných tuků a olejů. K těmto účelům lze pro přečištění využít dialýzy. Vzorek je umístěn do polyethylenové trubice a ponořen do rozpouštědla. Menší molekuly PAHs jsou schopné proniknout skrze póry membrány a větší molekuly lipidů zůstávají uvnitř.

Po přečištění extraktu je ještě nutné vzorek upravit na požadovaný objem (1 ml a méně). V případě, že analyt není termolabilní, lze pro tento účel využít rotační vakuovou odparku. Jestliže odpaření rozpouštědla nelze provést pomocí tepelné energie, je jeho objem redukován proudem inertního plynu [24].

### **3.3.1 Gelová permeační chromatografie**

Při separaci PAHs pomocí gelové permeační chromatografie se využívá interakce PAHs se skeletem gelu. Díky této interakci jsou PAHs eluovány až za pracovní oblastí gelu, zatímco interferující látky eluují z kolony dříve. Nejčastěji využívanou stacionární fází je dextranový gel zesíťovaný epichlorhydrinem v kombinaci s 2-propanolem jako mobilní fází. Alternativou stacionární fáze mohou být styren-divinylbenzenové gely. V určitém retenčním čase se pak jímá frakce PAHs, jejíž objem může být zredukován na rotační vakuové odparce přibližně na 1 ml. Takto připravený vzorek se buď přímo dávkuje do chromatografického zařízení nebo může být přečištěn ještě v druhém kroku pomocí sloupcové chromatografie nebo SPE [29, 41].

### **3.3.2 Sloupcová chromatografie**

Sloupcová chromatografie je jednoduchá, ale dodnes využívaná metoda založená na adsorpčním mechanismu. Pro přečištění extraktu pomocí sloupcové chromatografie se jako stacionární fáze využívá silikagel s větším zrněním (částice větší než 50  $\mu\text{m}$ ). To zajišťuje dostatečně rychlý průtok mobilní fáze kolonou vlivem pouhé gravitace. Plnění kolon pro sloupcovou chromatografii je realizováno buď za sucha nebo za mokra. Za sucha se do kolonky dávkuje aktivovaný silikagel po malých dávkách a jemným poklepáváním se usazuje v kolonce. Za mokra se do kolonky nalije suspenze silikagelu ve vhodném rozpouštědle a to se částečně odpustí tak, aby sloupec silikagelu zůstal kompletně smočen. Po naplnění kolony se vzorek nanese na kolonu v nepolárním rozpouštědle, nejlépe v hexanu a po jeho vsáknutí se tímto rozpouštědlem vymývají z kolony nasycené uhlovodíky. Pro eluci zóny PAHs se k hexanu přidá v poměru 1:1 dichlormethan [28, 46].

## 3.4 Finální analýza

Pro stanovení PAHs se v současné době nejvíce využívá chromatografických metod v kombinaci se spektrálními. Chromatografický systém se vždy skládá z jedné nepohyblivé, stacionární fáze a pohyblivé, mobilní fáze. Separační mechanismus je založen na rozdělování sloučenin mezi tyto dvě vzájemně nemísitelné fáze a z toho plynoucí rozdílné rychlosti migrace jednotlivých komponent směsi sloučenin chromatografickým systémem. Chromatografických metod se využívá jednak pro zvýšení koncentrace jedné nebo více složek a jejich izolaci v čistém stavu, ale i k identifikaci složek vzorku a stanovení jejich obsahu. Podle skupenství mobilní fáze rozlišujeme chromatografii plynovou (GC, Gas Chromatography), kapalinovou (LC, Liquid Chromatography) a superkritickou fluidní (SFC, Supercritical Fluid Chromatography). Stacionární fáze může být u GC a LC kapalná nebo pevná, u SFC pouze pevná.

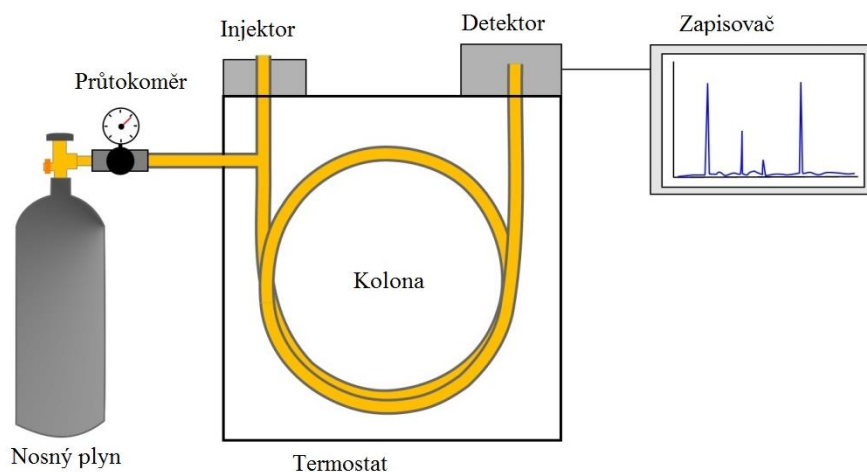
Mezi nejužívanější techniky pro stanovení PAHs patří plynová chromatografie v tandemu s hmotnostním spektrometrem jako detektorem a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) v systému obrácených fází s fluorescenční detekcí. Ostatní metody jako jsou chromatografie na tenké vrstvě, chromatografie s mobilní fází v nadkritickém stavu a přímá spektrální stanovení se využívají méně často.

Výhodou metody plynové chromatografie s kapilární kolonou je její vysoká separační účinnost a v případě využití hmotnostního spektrometru jako detektoru i selektivita. Separační účinnost vysokoúčinné kapalinové chromatografie je oproti GC sice nižší, ale fluorescenční detektor je citlivý s nízkými mezemi detekce a je selektivní pro látky poskytující fluorescenci [24, 19].

### 3.4.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je nejvyžívanější pro stanovení PAHs a jejich derivátů, a to především díky její vysoké separační účinnosti. Složky vzorků se v chromatografickém systému dělí po převedení do plynné fáze, a proto se GC hodí především pro separaci těkavých i polotěkavých a málo či středně polárních látek. Limitujícím faktorem pro stanovení PAHs jsou jejich vysoké body varů. V současné praxi je ale možné stanovovat PAHs až se 7 kruhy, což postačuje pro většinu stanovení.

V GC je nejčastěji využívána eluční technika, kdy je vzorek jednorázově nastříknut do kolony a unášen mobilní fází. S mobilní fází vzorek neinteraguje a v GC se pro ni vžilo spíše označení nosný plyn, který slouží pouze k transportu složek kolonou. Složky vzorku jsou tedy separovány na základě rozdílných interakcí pouze se stacionární fází a jsou postupně eluovány inertním nosným plynem. Jednotlivé frakce vycházející z kolony jsou postupně indikovány detektorem. Separace může probíhat při konstantní teplotě (izotermální separace), nebo může být teplota regulována (separace s programovanou teplotou) [42].



Obrázek 19: Schéma plynového chromatografu [43].

Úlohou nosného plynu v GC je transport složek kolonou. Pro tyto účely se nejčastěji využívá dusík, helium nebo vodík. Nejdůležitějšími kritérii pro výběr nosného plynu je kompatibilita s detektorem, cena a bezpečnost. Jako zdroj nosného plynu slouží tlakové láhve nebo generátory příslušných plynů. Průtok nosného plynu může být regulován mechanicky nebo elektronicky. Volbou nosného plynu a regulací průtokové rychlosti může být ovlivněna separační účinnost kolony.

Injektory slouží k převedení vzorku do plynného stavu a jeho nadávkování na začátek kolony, kde je dále unášen proudem nosného plynu. Dávkování se uskutečňuje pomocí plynotěsné mikrostříkačky nebo dávkovacího ventilu, a to ručně či automaticky. V případě kapilárních kolon se vzorek dávkuje pomocí injektoru s děličem nebo bez děliče toku.

K analýzám PAHs jsou používány výhradně kapilární kolony, nejčastěji křemenné potažené krycí vrstvou polyimidu, který kapiláře dodává pružnost. Délka kolony se pohybuje v rozmezí 12–50 m a vnitřní průměr 0,20–0,35 mm. Jako stacionární fáze nanesená na vnitřní stěně kapiláry se nejčastěji využívá polysiloxan s funkčními skupinami, např. 5 % difenyl a 95 % dimethyl. Tloušťka filmu stacionární fáze bývá nejčastěji 0,25  $\mu\text{m}$ . S touto mírně polární fází lze pracovat až do teplot 350 °C. Použitelné jsou také nepolární fáze na bázi polydimethylsiloxanu.

K detekci PAHs byl dlouhou dobu využíván plamenový ionizační detektor (FID, Flame Ionization Detector), jehož relativní odezva je přibližně stejná pro všechny základní PAHs. Není však selektivní a případná koeluce jiné složky může zkreslit výsledek. Pro stanovení A-PAHs se tento způsob detekce nehodí, naopak vhodnou metodou je spojení plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickým detektorem (MS, Mass Spectrometer), jehož tři základní součásti jsou iontový zdroj, hmotnostní analyzátor (separátor) a detektor.

Při využití tandemu GC/MS je nutné spojit kapilární kolonu končící na atmosférickém tlaku s MS pracujícím ve vakuu. To se provádí zavedením konce kapilární kolony do iontového zdroje hmotnostního spektrometru.

Nejběžnějším způsobem ionizace PAHs a ostatních organických molekul je ionizace svazkem urychlených elektronů, tzv. elektronová ionizace (EI, Electron Ionization). Elektrony emitované žhaveným vláknem jsou urychleny elektrostatickým polem a při interakci s cílovou molekulou dochází k vyražení jednoho elektronu (ojedinele více elektronů) za vzniku nabitých molekulových iontů. Energie předaná molekule je obvykle vyšší než energie potřebná ke vzniku molekulového iontu a její přebytek následně způsobuje fragmentaci tohoto iontu. Tento postup poskytuje hmotnostní spektra, která jsou při energii elektronového svazku 70 eV uspořádána po tzv. normalizaci do databází neboli knihoven spekter.

V analyzátoru MS probíhá separace iontů na základě jejich poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ). V kvadrupolovém analyzátoru jsou ionty děleny na základě odchýlení jejich trajektorie v radiofrekvenčním poli, které je vytvářeno čtyřmi tyčemi kruhového nebo hyperbolického průřezu uspořádanými v podélné ose do čtverce. Dvojice protilehlých tyčí jsou vodivě spojeny a je na ně vkládán stejný potenciál, složený ze stejnosměrné a vysokofrekvenční střídavé složky. Ionty při průchodu analyzátozem oscilují kolmo na podélnou osu kvadrupólu a projdou jen ty, které se pohybují po stabilní dráze. Ostatní z kvadrupólu vyletí nebo se vybijí dotekem s některou z tyčí. Dalším typem analyzátoru je sférická iontová past. Jedná se o hyperboloidní prsteneč se dvěma hyperboloidními víčky. Ionty jsou nahromaděny v okolí středu hyperboloidního prstence a zvyšováním vysokofrekvenčního napětí vkládaného na prstencovou elektrodu jsou jednotlivé ionty postupně vypuzovány na detektor. Průletový analyzátor TOF (Time of Flight) separuje jednotlivé ionty podle doby průletu mezi iontovým zdrojem a detektorem. Ionty jsou urychleny elektrostatickým polem, které jim uděluje stejnou kinetickou energii, a poté letí oblastí bez pole. Jejich rychlost je závislá na urychlovacím napětí, jejich hmotnosti a náboji. Na detektor pak jednotlivé ionty dopadají v různých časech.

Volba detektoru závisí na celkové konstrukci zařízení. Nejčastější metodou detekce je konverze kladných nebo záporných iontů na elektrony a zesílení jejich signálu elektronásobičem [42].

### **3.4.1.1 Identifikace A-PAHs pomocí retenčních indexů**

Hmotnostní spektra některých izomerů A-PAHs mohou být velmi podobné, a tak je v těchto případech identifikace jednotlivých izomerů na základě jejich hmotnostních spekter nevhodné. Alternativní metodou pro identifikaci látek s podobnými hmotnostními spektry je využití jejich retenčních indexů (RI). Retenční indexy jsou tabelované pro jednotlivé látky, avšak závisí také na podmínkách analýzy, tj. použité stacionární fázi a teplotním programu analýzy.

Retenční indexy vycházejí z homologických řad n-alkanů, kde každému uhlíku je přiřazen příspěvek 100 (methan obsahuje ve své struktuře jeden uhlíkový atom, jeho index je tedy  $I = 100$ , ethan  $I = 200$ , hexan  $I = 600$ ). Tato řada vytvoří stupnici, se kterou se porovnává retenční chování stanovované látky. Retenční čas (popř. retenční objem) sledované látky se přepočítá na retenční index, přičemž se využívá dvojice n-alkanů, z nichž jeden se eluuje dříve a druhý později než stanovovaná komponenta.

V praxi se využívají dva typy retenčních indexů. Pro izotermální analýzu se využívá Kovatsův retenční index (logaritmický RI):

$$I_x = 100n + 100 \frac{\log t'_{R(x)} - \log t'_{R(n)}}{\log t'_{R(n+1)} - \log t'_{R(n)}} \quad (1.1)$$

kde  $t'_{R(n)}$  a  $t'_{R(n+1)}$  je redukovaný retenční čas dvojice referenčních standardů a  $t'_{R(x)}$  je redukovaný retenční čas stanovované látky.

Pro separaci s termálním programem se využívá Van den Doolův a Kratzův index (lineární RI):

$$I_x = 100n + 100 \frac{t_{R(x)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}} \quad (1.2)$$

kde  $t_{R(n)}$  a  $t_{R(n+1)}$  je retenční čas dvojice referenčních standardů a  $t_{R(x)}$  je retenční čas stanovované látky [42, 44].

### 3.4.2 Vysokoučinná kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie je vhodná pro separaci látek tepelně nestálých a není tedy omezena těkavostí analytů. Při separaci PAHs pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie HPLC (High Performance Liquid Chromatography) se využívá systému obrácených fází, kde stacionární fáze vykazuje nižší polaritu než fáze mobilní. Separační mechanismus probíhá v tzv. kolonovém uspořádání, kde kolona je hladká válcovitá trubice naplněná stacionární fází. Jako stacionární fáze se uplatňuje silikagel o malé velikosti částecek modifikovaný alkylovými řetězci, nejčastěji oktadecyly nebo oktyly. Jako mobilní fáze jsou nejčastěji využívány binární směsi methanolu, acetonitrilu a tetrahydrofuranu s vodou. Při využití spektrofluorescenční detekce je nutné z mobilní fáze odstranit kyslík, který zhasí fluorescenci nebo snižuje její intenzitu. To se provádí pomocí vakuových odplyňovačů.

Aby bylo možné kapalinovou chromatografií separovat celou škálu PAHs od  $C_{10}$  do  $C_{24}$ , využívá se tzv. gradientové eluce, kdy se postupně zvyšuje eluční síla mobilní fáze. Nejdříve jsou z kolony eluovány PAHs s nízkou molekulovou hmotností mobilní fází s nejvyšším obsahem vody. Snižováním obsahu vody roste eluční síla mobilní fáze a dochází k eluci PAHs s vyšší molekulovou hmotností.

Nejvhodnější detekce pro PAHs je u HPLC realizována pomocí spektrofluorescenčního detektoru, jelikož PAHs mají snadno excitovatelné  $\pi$ -elektrony, díky kterým absorbují záření v ultrafialové a viditelné oblasti spektra, kromě toho většina PAHs emituje při deexcitaci fluorescenční záření a při nízkých teplotách i fosforescenční záření. Fluorescenční emisní spektrum, ve kterém je vynesena závislost intenzity fluorescence na vlnové délce, je charakteristickou vlastností pro jednotlivé PAHs. S rostoucím počtem jader v polyaromatickém systému vzrůstá i vlnová délka emitovaného záření. U A-PAHs působí alkylová skupina částečně rozmytí vibrační struktury a slabý posun k vyšším

vlnovým délkám. Vhodnou volbou excitačních a emisních vlnových délek můžeme často zaznamenávat určitou sloučeninu, i když současně s ní koeluují další fluoreskující látky.

Fluorimetrické detektory využívají jako zdroje budícího záření nízkotlaké rtuťové výbojky, případně laser, a k výběru vlnové délky excitačního a emisního záření filtry. Jejich konstrukce je jednoduchá a selektivita vysoká, neumožňují však rychlou volbu vlnové délky excitačního a emisního záření. Tu umožňují spektrofluorescenční detektory vybavené budícím zdrojem v podobě xenonové výbojky a dvěma monochromátory umožňujícími programovat vlnové délky budícího a emitovaného záření [28, 29].

## 4 Metoda

Cílem této části bakalářské práce je návrh optimálního analytického postupu pro stanovení A-PAHs v reálném vzorku a jeho experimentální ověření v laboratořích ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí.

Navržený analytický postup se skládá z tlakové extrakce rozpouštědlem, přečištění sloupcovou chromatografií a stanovením na přístroji Pegasus® GC-HRT-4D, který kombinuje kompletní dvoudimenzionální GC×GC chromatografii s nejvýkonnějším hmotnostním spektrometrem.

### 4.1 Tlaková extrakce rozpouštědlem

2 g připraveného vzorku se smísí se 3 g bezvodého síranu sodného a směs je umístěna do 11 ml extrakční patrony. Zbýlý objem je vyplněn inertním materiálem, např. křemennou vatou, skleněnými kuličkami, nebo čistým pískem. Jako vhodné extrahovadlo může být využit dichlormethan. Extrakce se provede ve dvou cyklech trvajících 5 min. při teplotě 100 °C a tlaku 14 MPa. Extrakt se jímá do 40 ml baňky a je následně odpařen do sucha na vakuové rotační odparce při 30 °C a následně rozpuštěn ve 2 ml n-hexanu [45].

### 4.2 Sloupcová chromatografie

Skleněná kolona o rozměrech 10×1 cm se naplní za sucha silikagelem. Vzorek rozpuštěný v DCM se smísí s malým množstvím silikagelu a poté se proudem dusíku rozpouštědlo odstraní. Takto připravený vzorek je nanesen na kolonu. V prvním kroku se vymyjí alkanly pomocí 10 ml n-hexanu a v druhém kroku 10 ml směsi n-hexanu a dichlormethanu (1:1) PAHs [22, 46].

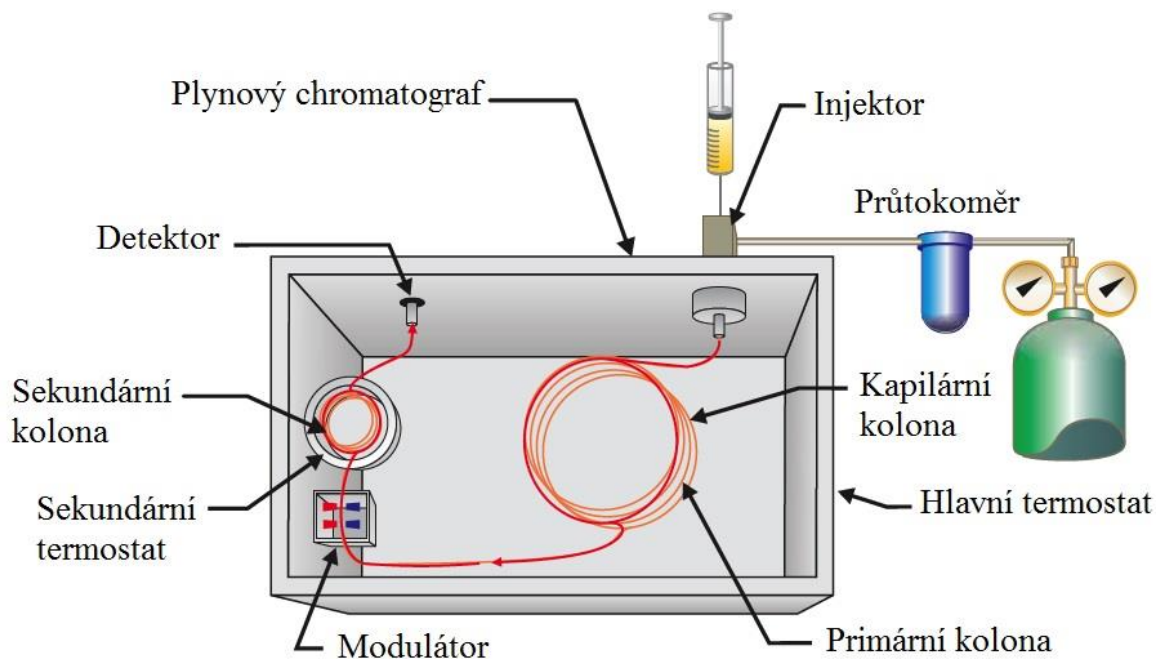
### 4.3 GC×GC-TOF MS

Dvoudimenzionální plynová chromatografie se úspěšně využívá pro analýzu komplexních vzorků obsahující velké množství složek. Při analýze těchto vzorků na jedné koloně mohou některé složky koeluovat a separace tak není dostatečná. Jedna kolona totiž nemusí mít potřebnou tzv. píkovou kapacitu, tj. počet píků, který daný systém je schopen rozdělit během jedné analýzy. Řešením pro zvýšení píkové kapacity je zařazení druhé kolony, která bude dělit složky vzorku odlišným mechanismem, než kolona první.

Jako normální uspořádání se v dvoudimenzionální plynové chromatografii používá primární nepolární kolona následovaná sekundární, polární kolonou, která je více selektivní. Nepolární primární kolona o rozměrech typicky 30 m × 0,25 mm a tloušťce stacionární fáze 0,25 μm dělí složky vzorku

podle bodů varu a polární sekundární, kratší a užší kolona o rozměrech typicky  $1,5\text{ m} \times 0,1\text{ mm}$  a tloušťce stacionární fáze  $0,1\text{ }\mu\text{m}$  separuje složky podle polarity. Mezi obě kolony je vřazen modulátor, který slouží k dávkování vzorků z první dimenze do dimenze druhé. Modulátor během krátkých cyklů vzorek vymrazuje na počátku sekundární kolony a poté jej krátkým pulzem horkého vzduchu dávkuje do druhé kolony.

Nejvhodnějším typem detektoru je pro GC×GC hmotnostní spektrometr s analyzátozem TOF, který dokáže snímat až stovky spekter za sekundu [47].



Obrázek 20: Schéma dvoudimenzionálního chromatografu [48].

# 5 Experimentální část

## 5.1 Použité chemikálie

- Hexan, čistota 97,0 % (GC), Sigma Aldrich, Německo
- Dichlormethan, čistota 99,9 %. Sigma Aldrich, Německo
- Isooktan pro stopovou analýzu, Merck, Německo
- Silikagel pro kolonovou chromatografii, šířka pórů 0,040–0,063 mm, Merck, Německo
- Dusík, čistota 5.0, SIAD, Česká republika
- Helium, čistota 6.0, SIAD, Česká republika
- Biomarker standards A-PAHs, Chiron, Norsko

## 5.2 Přístroje a zařízení

- Bruker EVOQ™ GC Triple Quadrupole, autosampler CP-8400
- Rotační vakuová odparka Büchi Rotavapor R-205 s vodní lázní Büchi® heating bath B-490, Švýcarsko
- Koncentrátor Labicom Evaterm

## 5.3 Vzorky

Analýze byly podrobeny tři vzorky pyrolýzního oleje z experimentální mikrovlnné pyrolýzy dřevěných pelettek.

*Tabulka 6: Analyzované vzorky.*

číslo vzorku	vzorek	stav
1	pyrolýzní olej	hydrogenovaný
2	pyrolýzní olej	surový
3	pyrolýzní olej	surový

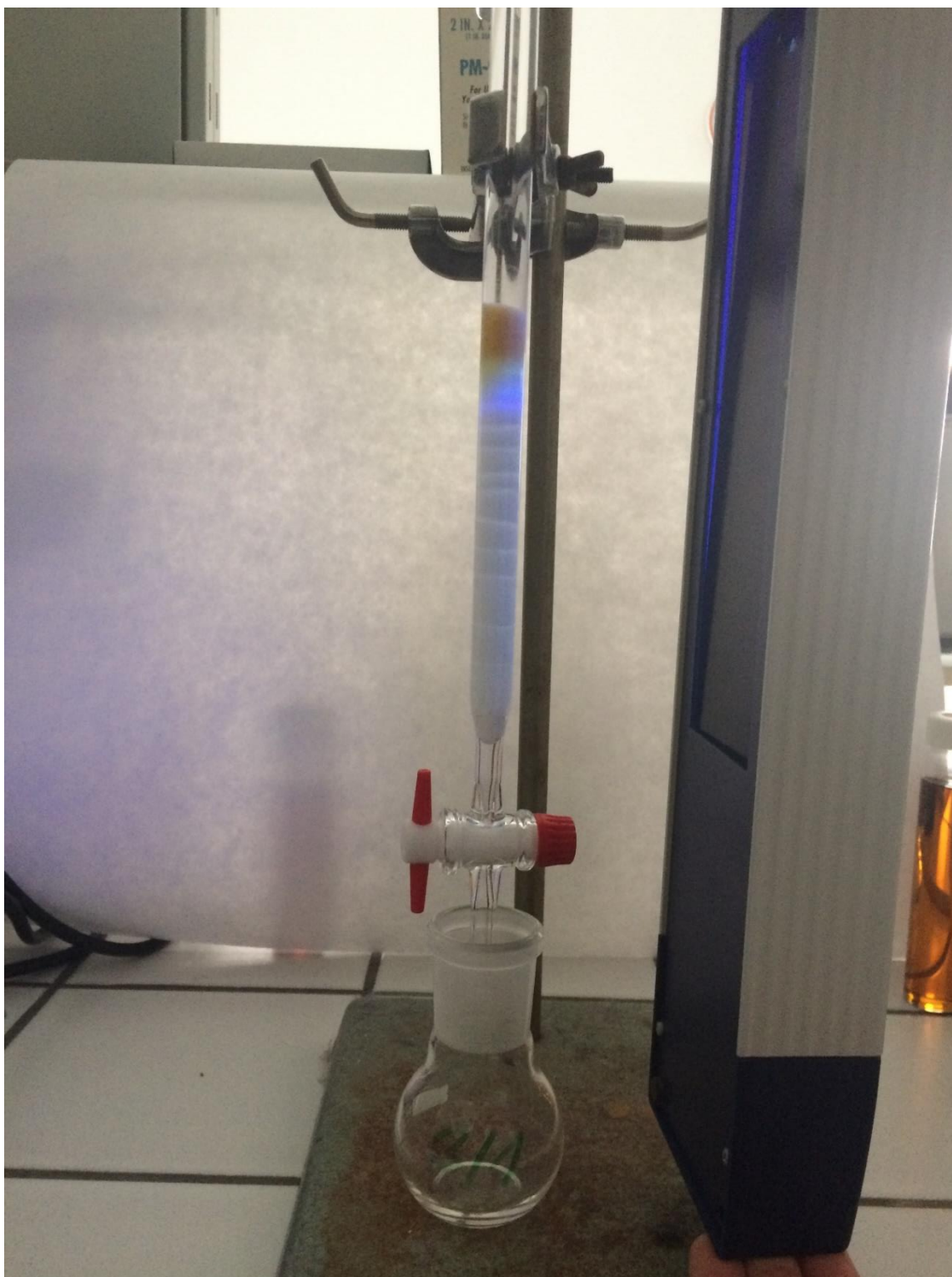
### 5.3.1 Sloupcová chromatografie

Analyty obsažené ve vzorku byly separovány pomocí sloupcové kapalinové chromatografie. Byla sestavena aparatura pro sloupcovou chromatografii, skládající se ze skleněné kolony opatřené teflonovým kohoutem. Aby nedošlo k ucpání kohoutu stacionární fází, byl na dno kolony vložen malý smotek skelné vaty. Kolona byla poté naplněna aktivovaným silikagelem za sucha s poklepáváním do

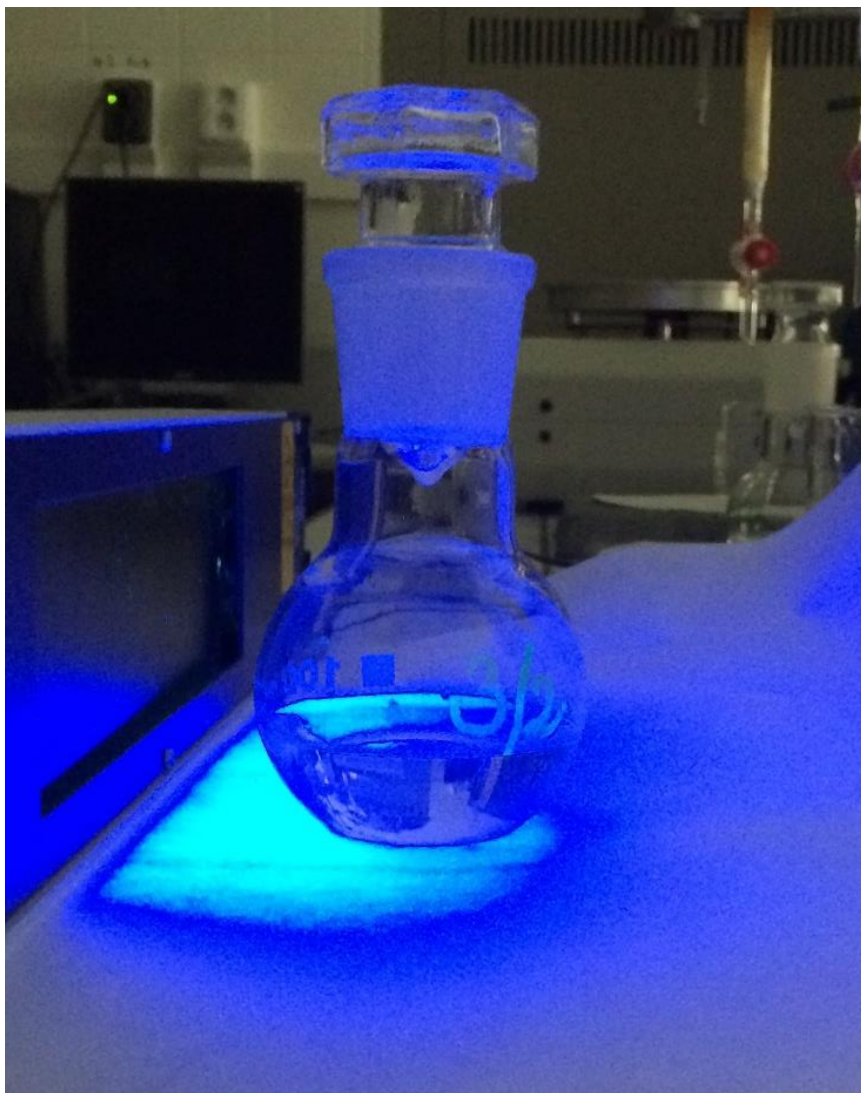
výšky 10 cm. Silikagel byl předem aktivován 3 hodiny v sušárně při teplotě 180 °C. Takto připravená kolona byla uchycena dvěma laboratorními držáky ke stojanu.

Oba kapalně vzorky (100 µl) byly smíchány s jednou lžičkou neaktivovaného silikagelu a 5 ml hexanu. Tato směs byla promíchána a umístěna na vyhřívanou desku koncentrátoru Labicom Evaterm, kde do nich byl pomocí ocelové jehly zaveden dusík. Proud dusíku odstranil rozpouštědlo a sypké vzorky byly nanесeny na připravené kolony.

První frakce byla eluována 15 cm<sup>3</sup> hexanu, eluát z kolony vytékal přibližně 2 hodiny a byl jímán do 50 cm<sup>3</sup> baněk. Poté, co hladina hexanu klesla na úroveň stacionární fáze, byla z kolony eluována druhá frakce pomocí 50 cm<sup>3</sup> směsi dichlormethanu a hexanu v poměru 1:1 a eluát byl jímán do baněk o objemu 100 cm<sup>3</sup>. Druhá frakce protékala kolonou velmi pomalu a celý proces trval více než 10 hodin. Během eluce druhé frakce byla pozorována fluorescence aromatických látek pod UV lampou při 366 nm. Objem získaných vzorků byl zredukován přibližně na 1 ml pomocí rotační vakuové odparky.



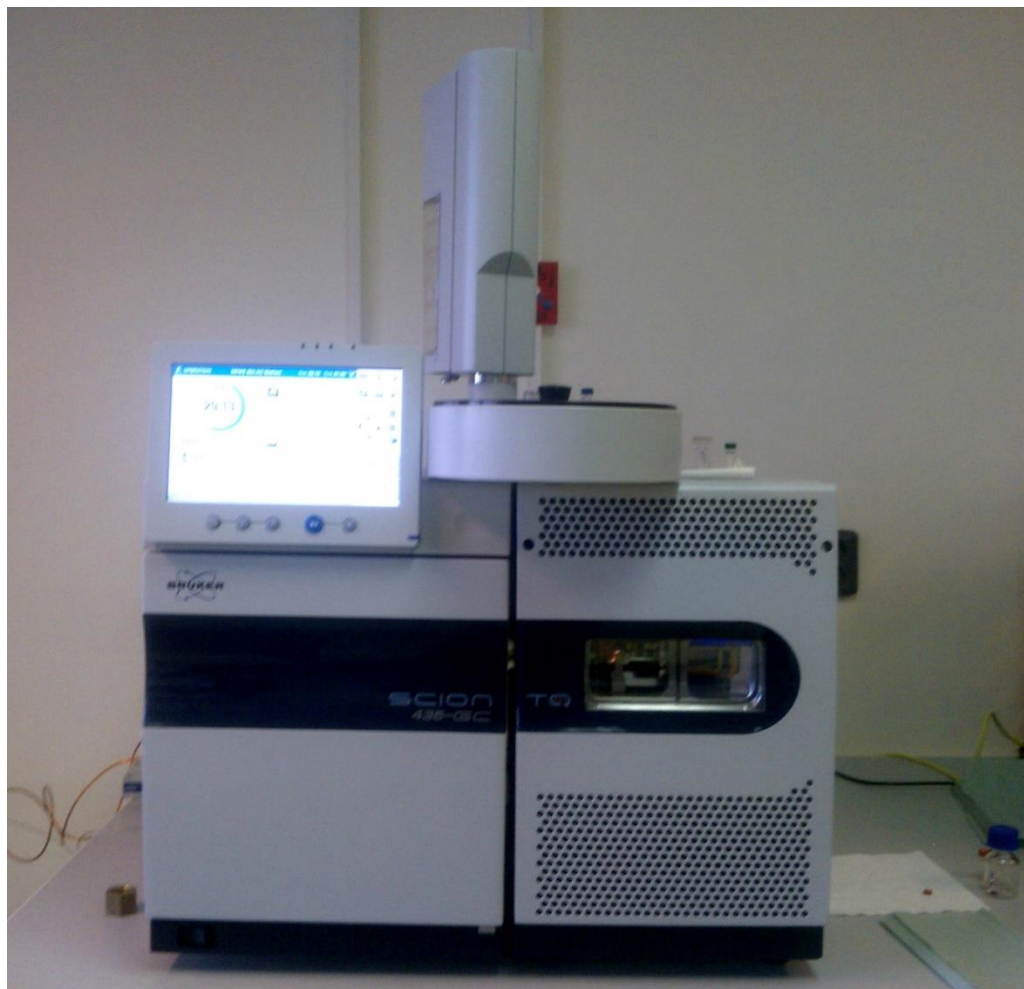
Obrázek 21: Fluorescence zóny aromatických sloučenin.



*Obrázek 22: Fluorescence druhé frakce vzorku č. 3.*

### 5.3.2 Analýza vzorků

Analýza kalibračních a reálných vzorků byla provedena pomocí plynového chromatografu Bruker s hmotnostně spektrometrickou detekcí a kolonou SLB™-5 ms o rozměrech 60 m×0,25 mm×0,25 μm. Pro ovládání systému, sběr a vyhodnocování dat byl využit software MSWS8.



Obrázek 23: Plynový chromatograf Scion TQ 436-GC.

### 5.3.3 Podmínky analýzy

- Teplota injektoru: 250 °C
- Nástřik vzorku: 1 µl bezděličově (1 min splitless period), příp. s děličem toku, dělicí poměr 1:25
- Nosný plyn: Helium 6.0 (SIAD), konstantní průtok 1 ml/min
- Teplotní program kolony: 80 °C po 1 min, 5°/min do 280 °C, izoterma 10 min.
- Teplota interface: 260 °C
- Teplota iontového zdroje: 250 °C
- Registrace spekter: scan v rozsahu 50 – 450 u

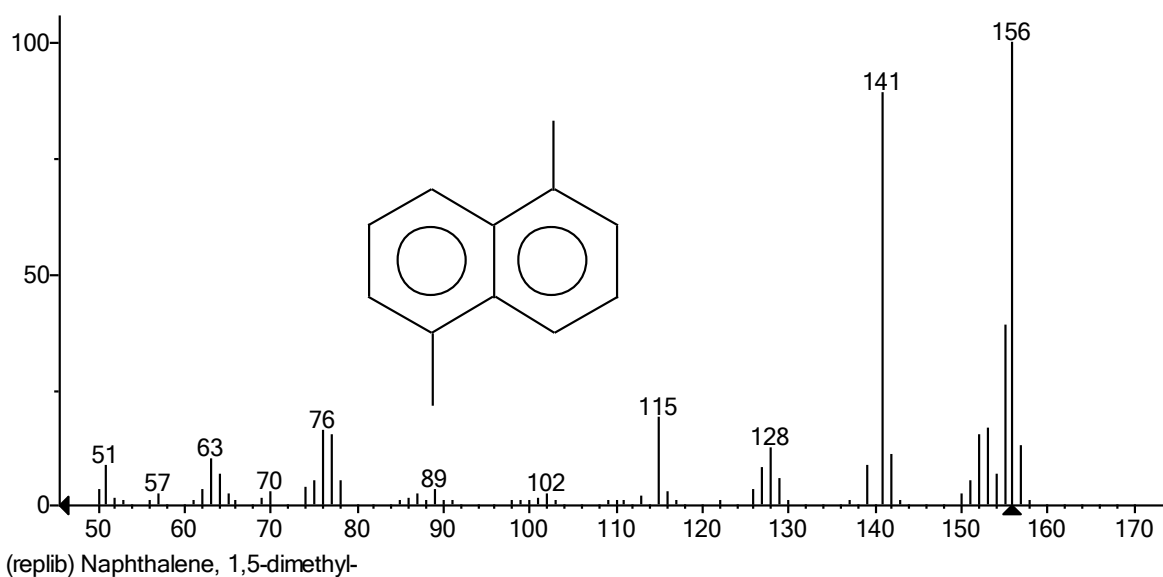
# 6 Výsledky a diskuze

## 6.1 Analýza vzorků pomocí GC-MS

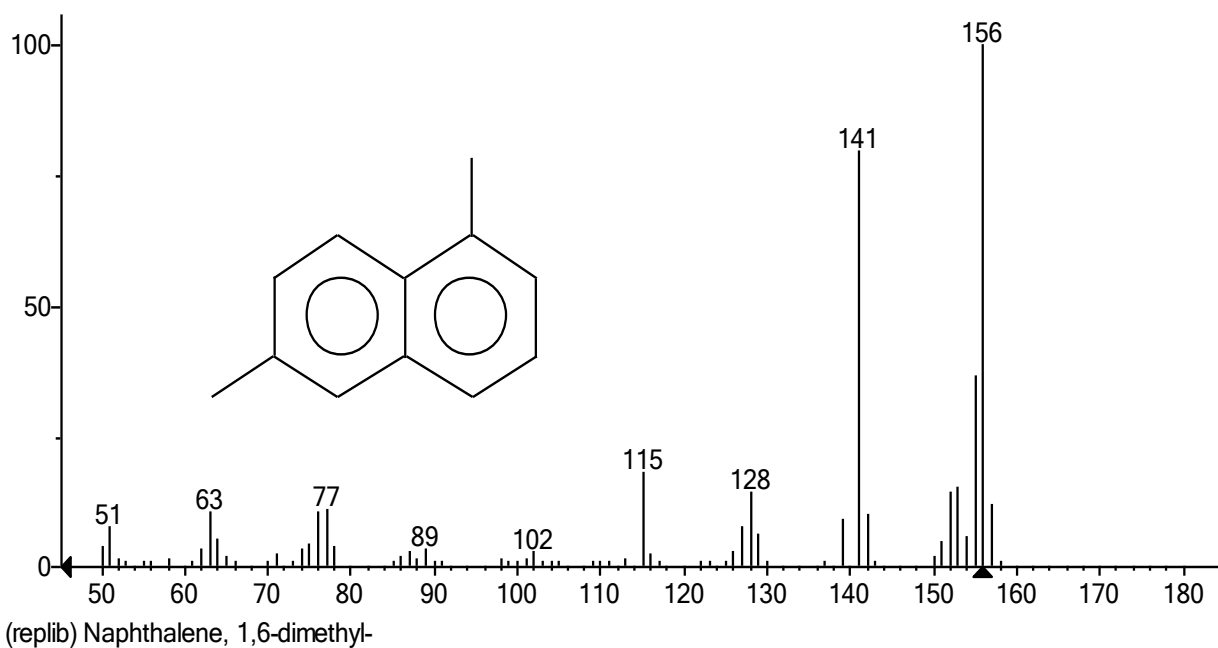
Jako metoda pro identifikaci analytů v reálných vzorcích byla zvolena plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Nevýhodou této metody je, že jednotlivé frakce vzorku nebyly po průchodu jednou kolonou dostatečně separovány. Z těchto důvodů by bylo vhodnější využít dvoudimenzionální plynovou chromatografii, kde by se jednotlivé frakce dělily ještě na sekundární koloně.

Ve vzorku hydrogenovaného pyrolýzního oleje byly identifikovány vyšší alkany. V prvních frakcích vzorků surového pyrolýzního oleje byly nalezeny vyšší alkany, cyklické sloučeniny, alkeny, alkyny a alkoholy s délkou uhlíkového řetězce od 14 do 21 uhlíků. Ve druhých frakcích byly prokázány A-PAHs, a to monosubstituované, disubstituované a trisubstituované naftaleny, dále pak monosubstituované fenanthreny a anthraceny.

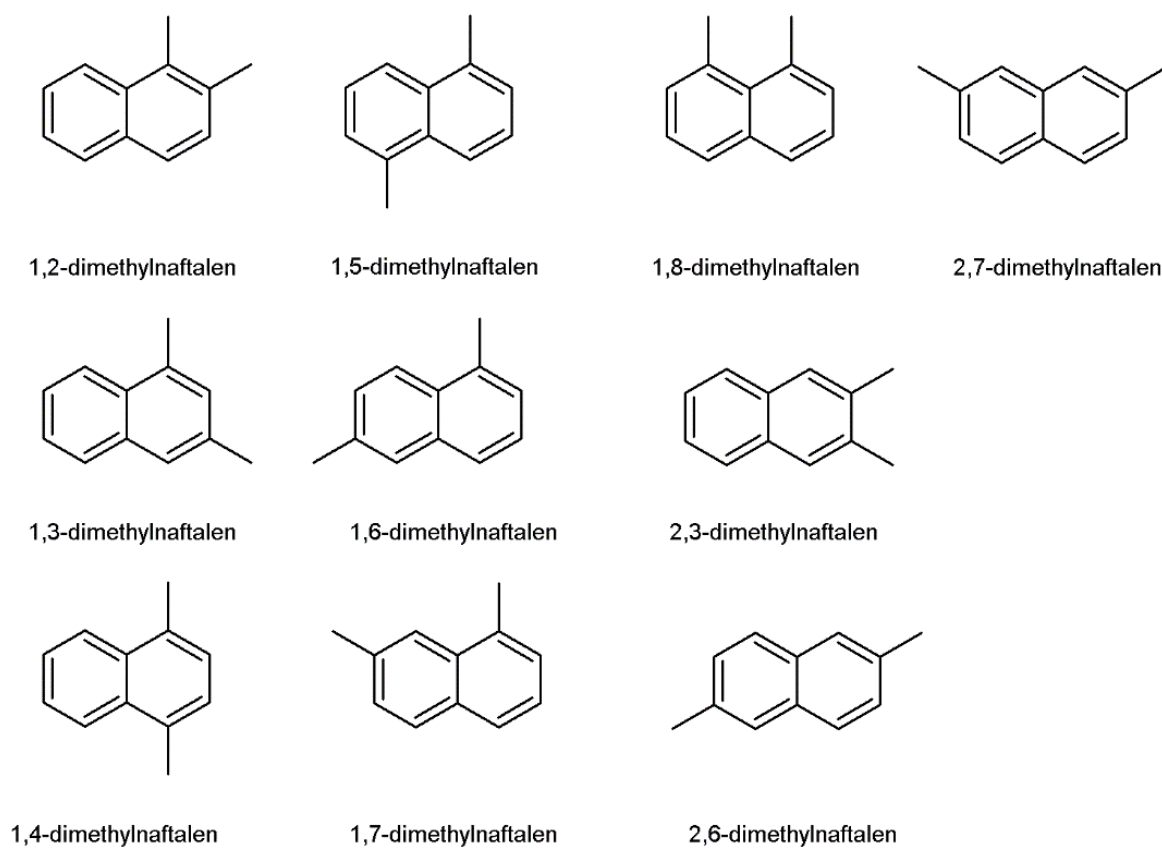
Identifikace jednotlivých izomerů je obtížná, neboť hmotnostní spektra jsou si velmi podobná, jak je patrné z obrázku 24 a 25. Pro rozlišení jednotlivých izomerů je poté nezbytné řídit se porovnáním s retenčními časy standardů, popřípadě využít retenční indexy.



Obrázek 24: Hmotnostní spektrum 1,5-dimethylnaftalenu.



Obrázek 25: Hmotnostní spektrum 1,6-dimethylnaftalenu.



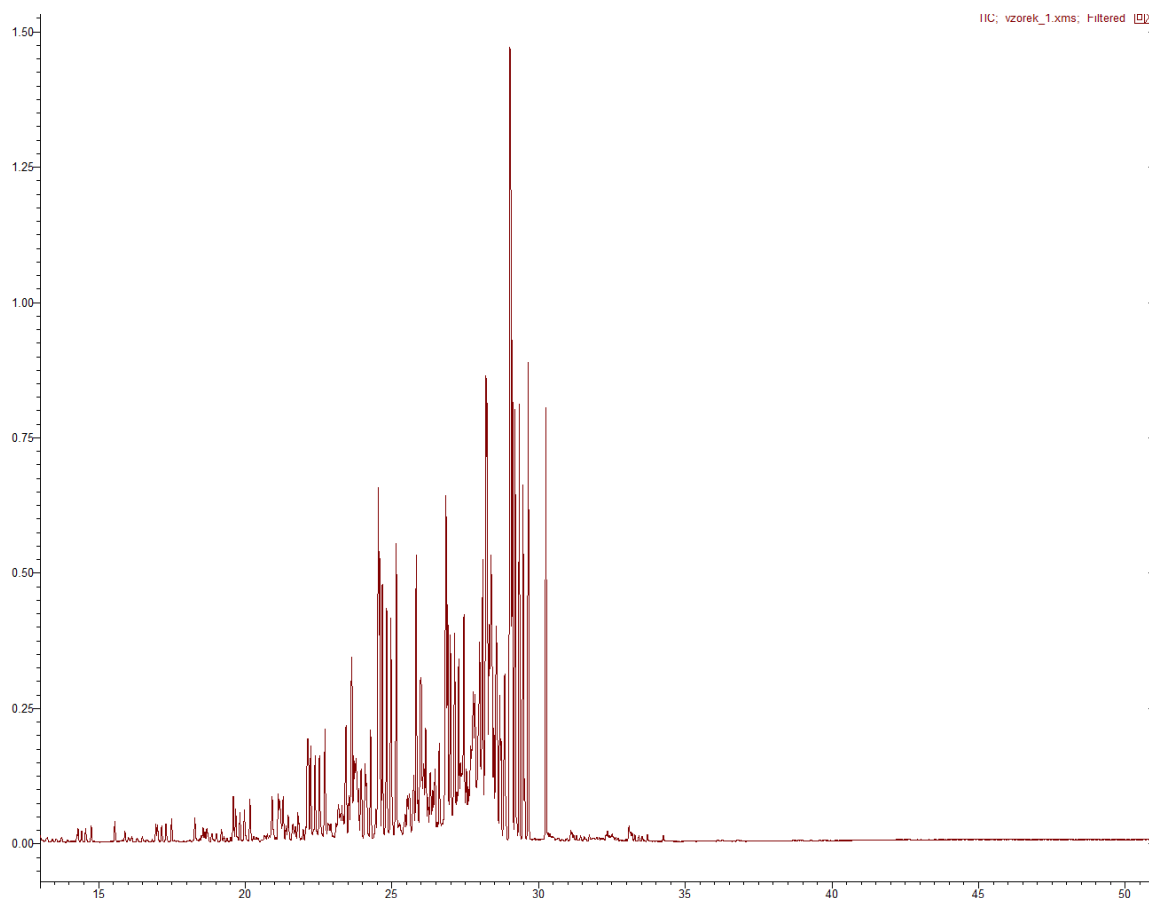
Obrázek 26: Stanovované izomery naftalenu.

Tabulka 7: Retenční časy dimethylnaftalenů..

Izomer	retenční čas [min]
2.6-dimethylnaftalen	21,815
2.7-dimethylnaftalen	21,904
1.7-dimethylnaftalen	22,196
1.6-dimethylnaftalen	22,455
2.3-dimethylnaftalen	22,754
1.4-dimethylnaftalen	22,755
1.5-dimethylnaftalen	22,827
1.2-dimethylnaftalen	23,129
1.3-dimethylnaftalen	23,311

### 6.1.1 Vzorek hydrogenovaného pyrolýzního oleje

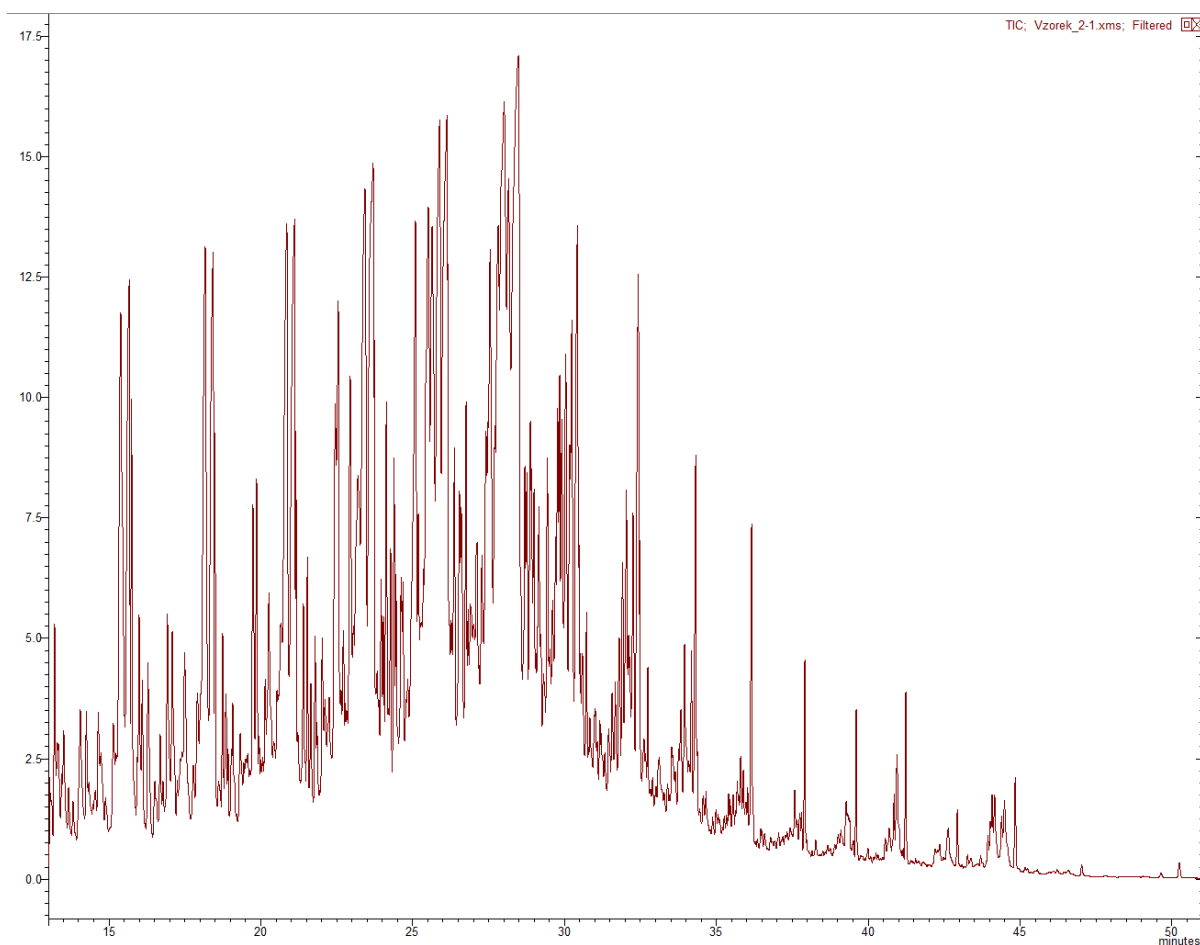
Na obrázku 27 je uveden chromatogram vzorku hydrogenovaného pyrolýzního oleje. Ve vzorku byly stanoveny převážně vyšší alkyany obsahující ve své struktuře 14–20 uhlíků. Seznam stanovených sloučenin je uveden v příloze 1.



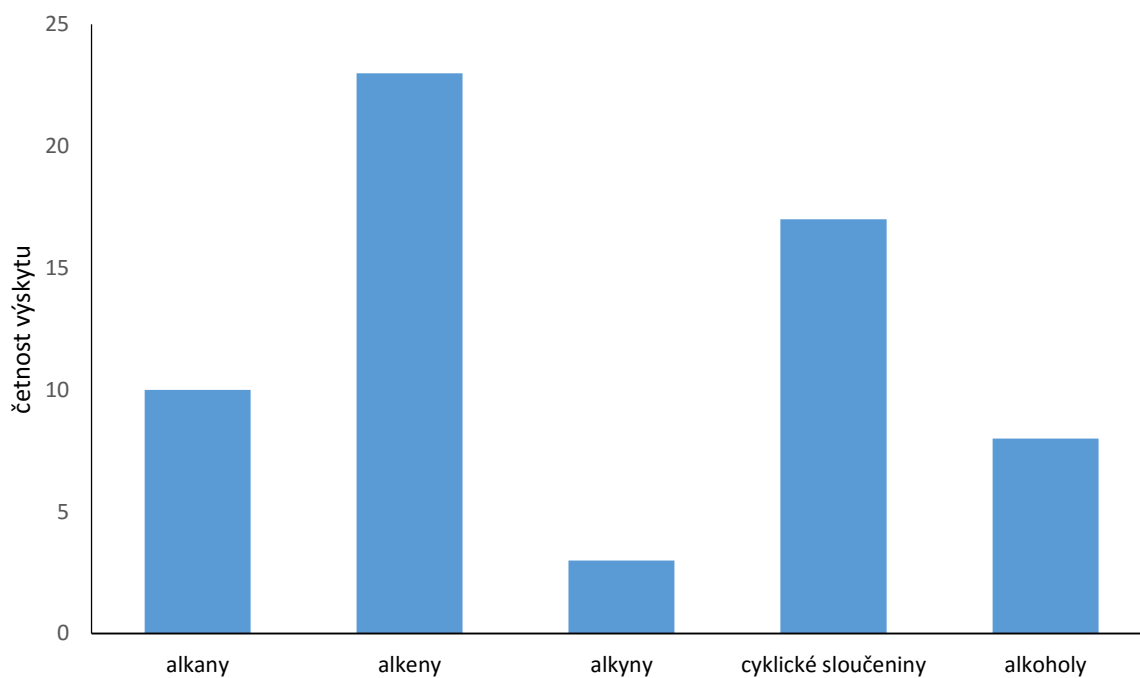
Obrázek 27: Chromatogram vzorku hydrogenovaného pyrolýzního oleje.

## 6.1.2 První frakce vzorku 2 a 3

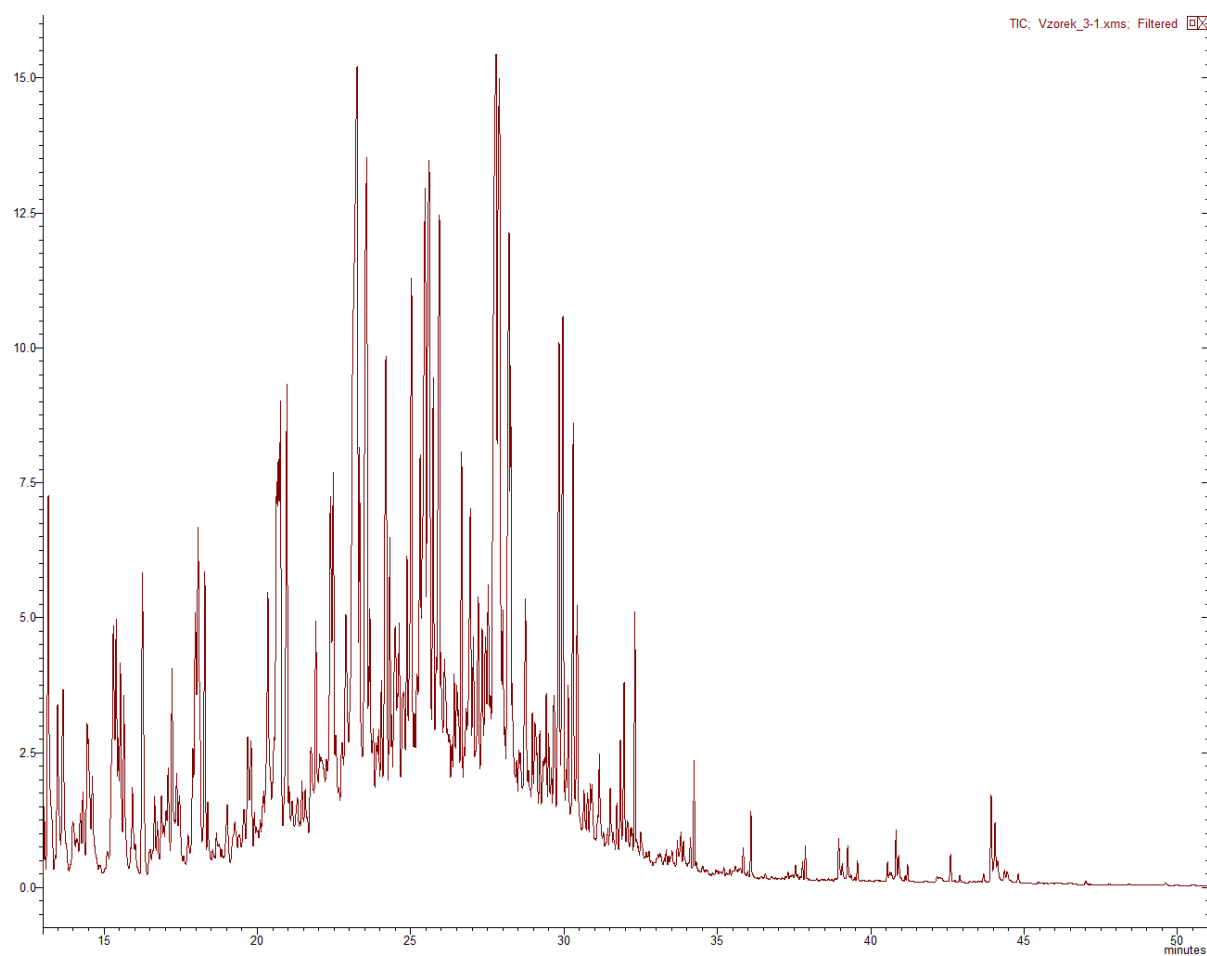
V prvních frakcích vzorků surového pyrolýzního oleje byly stanoveny vyšší alkany, alkeny, alkyny, cyklické sloučeniny a alkoholy. Seznamy stanovených látek jsou uvedeny v příloze 2 a 4. Chromatogramy obou vzorků jsou uvedeny na obrázcích 28 a 30. V první frakci vzorku č. 2 byly nejzastoupenější alkeny, dále cyklické sloučeniny, alkany, alkoholy a nejméně zastoupené byly alkyny, jak je patrné z histogramu na obrázku 29. V první frakci vzorku č. 3 převládaly alkeny a cyklické sloučeniny, méně zastoupené byly alkany a alkoholy.



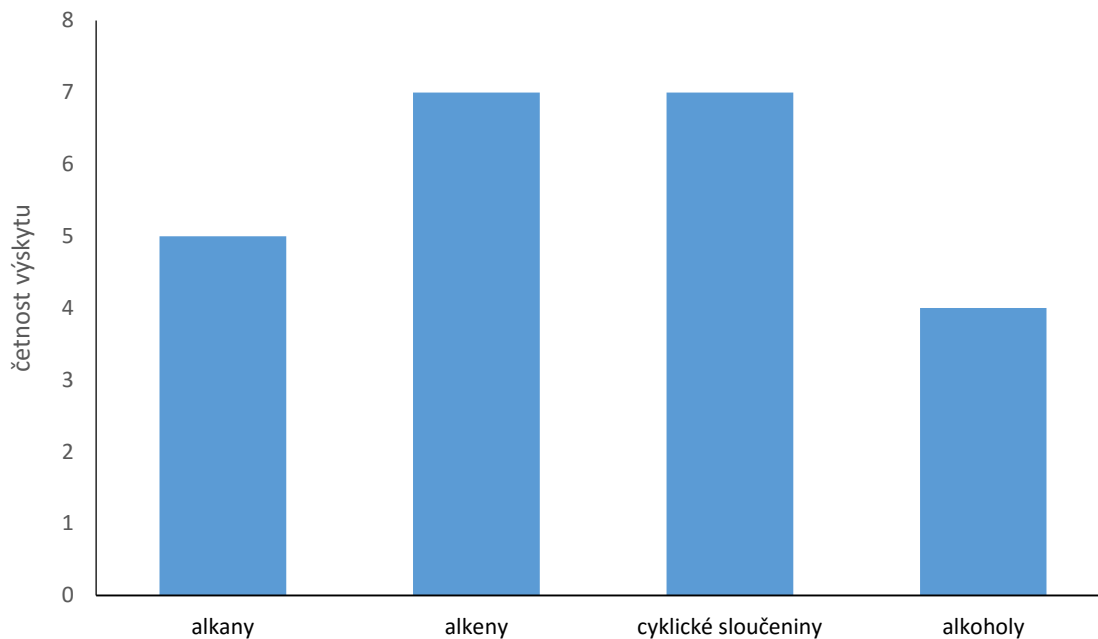
Obrázek 28: Chromatogram první frakce vzorku 2.



Obrázek 29: Poměrový obsah stanovovaných sloučenin v první frakci vzorku 2.



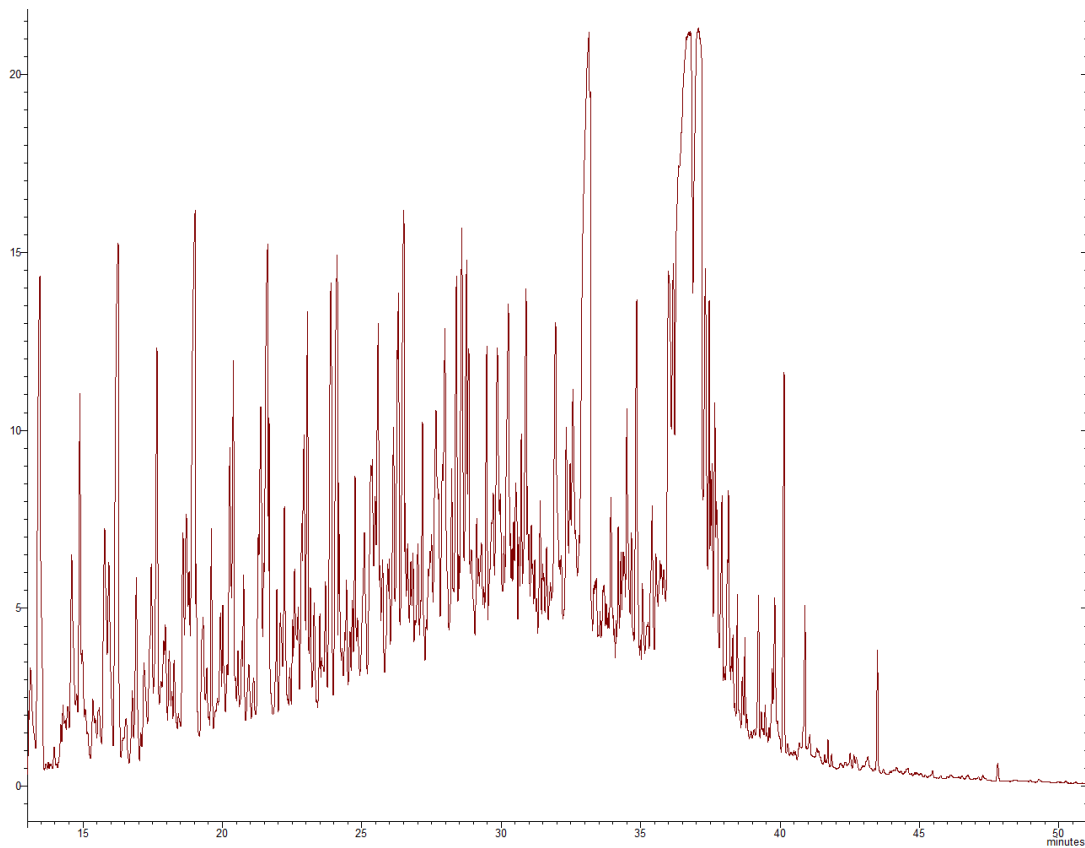
Obrázek 30: Chromatogram první frakce vzorku 3.



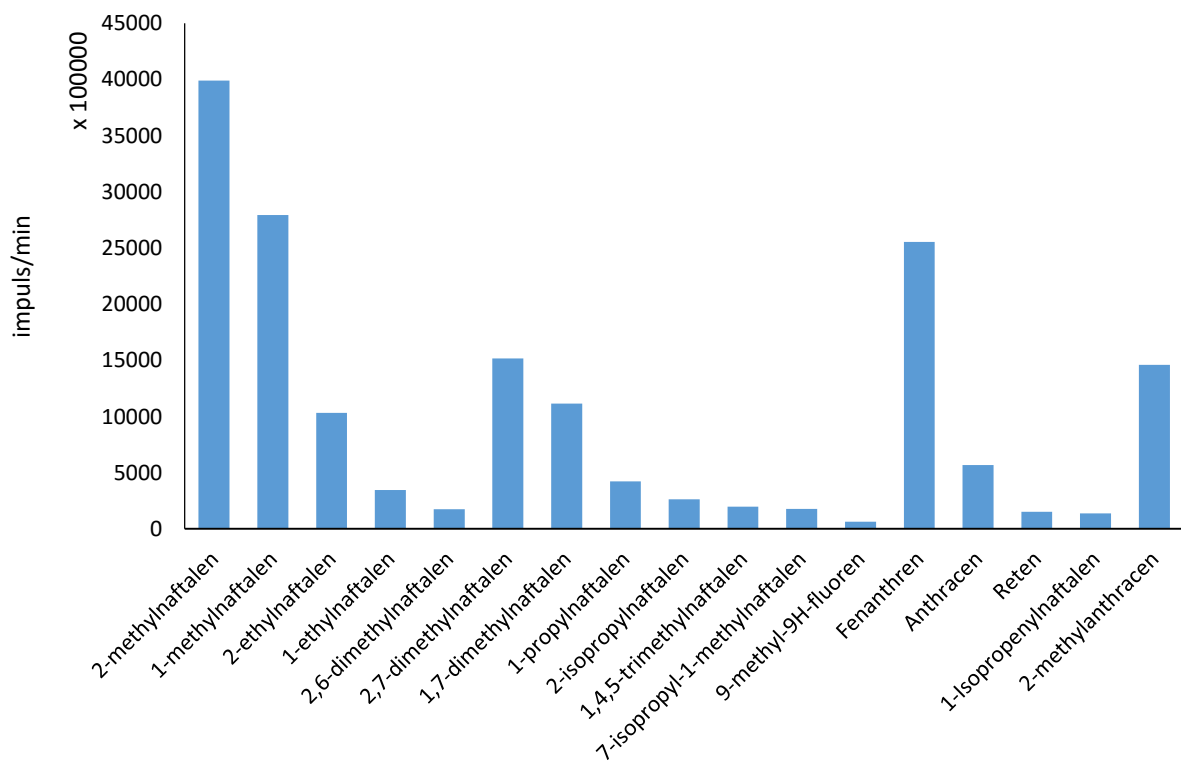
Obrázek 31: Poměrový obsah stanovovaných sloučenin v první frakci vzorku 3.

### 6.1.3 Druhá frakce vzorku 2

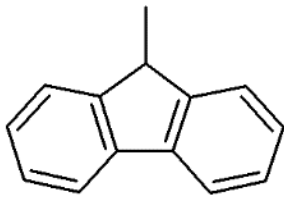
Ve druhé frakci vzorku 2 byly stanovovány A-PAHs. Jak je patrné z histogramu na obrázku 33, nejvíce zastoupené byly methylnaftaleny, a to izomery 1-methylnaftalen a 2-methylnaftalen. Dále se ve vzorku vyskytovaly dimethylnaftaleny, ale i A-PAHs s delšími postranními řetězci, jako jsou ethylnaftaleny a isopropylnaftaleny. Z tříčlenných cyklů byl ve vzorku identifikován reten a 2-methylanthracen.



Obrázek 32: Chromatogram druhé frakce vzorku 2.



Obrázek 33: Poměrové zastoupení jednotlivých A-PAHs ve druhé frakci vzorku 2.

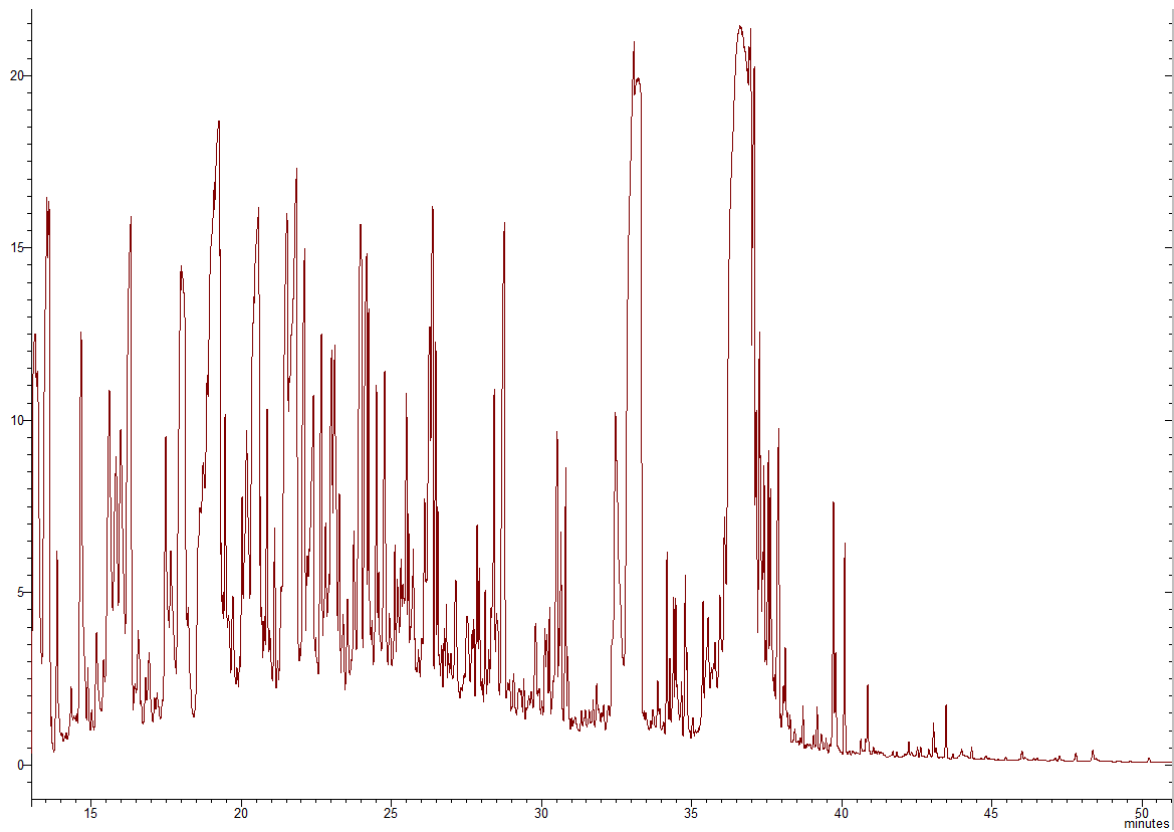


## 9-methyl-9H-fluoren

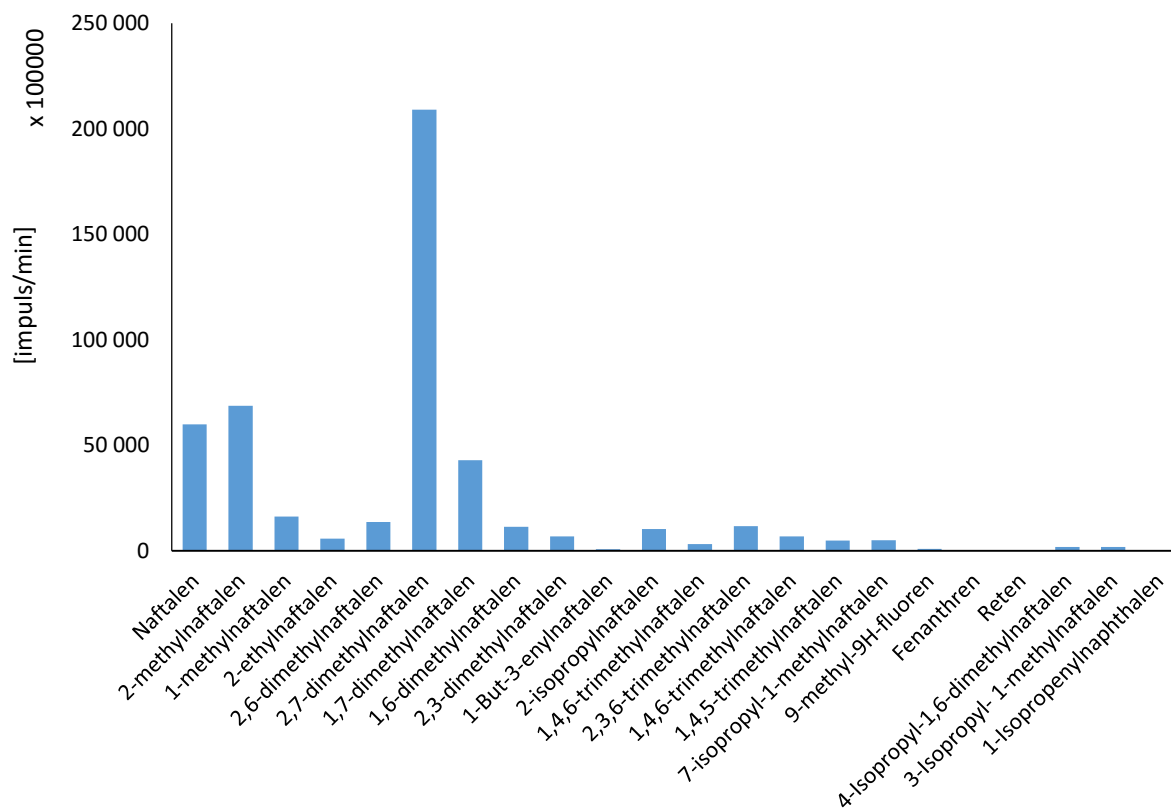
Obrázek 34: Struktura 9-methyl-9H-fluorenu.

### 6.1.4 Druhá frakce vzorku 3

Ve druhé frakci vzorku č. 3 byly z A-PAHs nejzastoupenější dimethylnaftaleny, a to především izomer 1,7-dimethylnaftalen. Méně zastoupeny byly methylnaftaleny spolu se svým parentním PAH naftalenum. Z tříčlenných A-PAHs byl identifikován pouze reten.



Obrázek 35: Chromatogram druhé frakce vzorku 3.



Obrázek 36: Poměrové zastoupení A-PAHs ve druhé frakci vzorku 3.

## 7 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout dosud publikované informace o výskytu A-PAHs v životním prostředí, včetně charakterizace původu kontaminace na základě diagnostických poměrů, shrnutí jejich negativních vlivů na člověka i životní prostředí, navržení optimálního analytického postupu pro vzorkování a analýzu těchto látek a ověření tohoto postupu na vybraném malém souboru vzorků v laboratořích ÚCHTOŽP.

V teoretické části jsou uvedeny základní informace o fyzikálních, chemických a toxikologických vlastnostech A-PAHs, výskytu a osudu v jednotlivých složkách životního prostředí. Dále se práce zaměřuje na možnosti analytického stanovení A-PAHs v půdách, vodách a ovzduší.

V rámci experimentální části práce byly vzorky frakcionovány pomocí sloupcové chromatografie a analyzovány na plynovém chromatografu s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Analýzou bylo zjištěno, že první vzorek hydrogenovaného pyrolýzního oleje obsahuje převážně vyšší alkany. První frakce vzorků surových pyrolýzních olejů jsou si z kvalitativního hlediska podobné. Obsahují převážně alkany, alkeny, cyklické sloučeniny, alkyny a alkoholy v různých poměrech. Ve druhých frakcích byly identifikovány alkylované naftaleny, fenantreny, anthraceny a další A-PAHs, jejichž seznam je uveden v příloze 3 a 5. Dále byly ve druhých frakcích identifikovány dibenzofurany a estery vyšších mastných kyselin.

Analýzou reálných vzorků bylo zjištěno, že pyrolýzní oleje z experimentální mikrovlnné pyrolýzy dřevěných peletek obsahují značné množství nebezpečných látek, jako jsou PAHs a A-PAHs. Tyto látky jsou nebezpečné nejen pro člověka, ale i pro životní prostředí, což je nezbytné vzít v úvahu při dalším využívání těchto olejů.

## 8 Seznam citované literatury

- [1] ANDERSON, Kim A., Michael J. SZELEWSKI, Glenn WILSON, Bruce D. QUIMBY a Peter D. HOFFMAN Modified ion source triple quadrupole mass spectrometer gas chromatograph for polycyclic aromatic hydrocarbon analyses. *Journal of Chromatography A*. 2015, **1419**, 89-98. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.09.054. ISSN 00219673. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967315013606>
- [2] EISLER, Ronald. *Eisler's encyclopedia of environmentally hazardous priority chemicals*. Amsterdam: Elsevier, 2007. ISBN 978-0-444-53105-6. Dostupné také z: [https://books.google.cz/books?id=B3qXQswP8zIC&pg=PA645&dq=pah++carcinogen&hl=cs&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?id=B3qXQswP8zIC&pg=PA645&dq=pah++carcinogen&hl=cs&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- [3] Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí: Vyhledávání. *Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí: Masarykova univerzita v Brně - Přírodovědecká fakulta* [online]. 2008 [cit. 2015-12-06]. Dostupné z: [http://www.recetox.muni.cz/res/file/prednasky/holoubek/chzp-III-2008/CH%C5%BDP\\_III\\_05\\_PAHs\\_01.pdf](http://www.recetox.muni.cz/res/file/prednasky/holoubek/chzp-III-2008/CH%C5%BDP_III_05_PAHs_01.pdf)
- [4] *PAHs and related compounds: chemistry*. S.l.: Springer, 1997. ISBN 978-364-2082-863.
- [5] ZHANG, L., I. CHENG, D. MUIR a J.-P. CHARLAND Scavenging ratios of polycyclic aromatic compounds in rain and snow in the Athabasca oil sands region. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2015, **15**(3), 1421-1434. DOI: 10.5194/acp-15-1421-2015. ISSN 1680-7324. Dostupné také z: <http://www.atmos-chem-phys.net/15/1421/2015/>
- [6] TANCELL, Paul, Michael RHEAD, Robin PEMBERTON a Jim BRAVEN. Diesel combustion of an alkylated polycyclic aromatic hydrocarbon. *Fuel*. 1996, **75**(6), 717-723. DOI: 10.1016/0016-2361(95)00300-2. ISSN 00162361. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0016236195003002>
- [7] HOGAN, Natacha, Katie LEE, Bernd KÖLLNER a Michael VAN DEN HEUVEL The effects of the alkyl polycyclic aromatic hydrocarbon retene on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immune response. *Aquatic Toxicology*. 2010, **100**(3), 246-254. DOI: 10.1016/j.aquatox.2010.07.020. ISSN 0166445x. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X10002687>
- [8] RONALD G. HARVEY., *Polycyclic aromatic hydrocarbons*. New York [u.a.]: Wiley [u.a.], 1997. ISBN 978-047-1186-083.

- [9] MILTON, Lee, Miloš NOVOTNÝ a Keith BARTLE. *Analytical chemistry of polycyclic aromatic compounds*. New York: Academic press, 1981. ISBN 0-12-440840-0. Dostupné také z: [https://books.google.cz/books?id=dkfNkc3PFKcC&pg=PA57&dq=pah+carcinogenicity&hl=cs&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?id=dkfNkc3PFKcC&pg=PA57&dq=pah+carcinogenicity&hl=cs&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- [10] DIMITRIOU-CHRISTIDIS, Petros, Benjamin HARRIS, Thomas MCDONALD, Erica REESE a Robin AUTENRIETH Estimation of selected physicochemical properties for methylated naphthalene compounds. *Chemosphere*. 2003, **52**(5), 869-881. DOI: 10.1016/S0045-6535(03)00288-1. ISSN 00456535. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653503002881>
- [11] VOL. ED.: A.H. NEILSON., *Anthropogenic compounds*. Berlin [u.a.]: Springer, 1998. ISBN 35-406-3422-3.
- [12] TOXNET. *HSDB* [online]. 1983, 19.10.2015 [cit. 2015-12-06]. Dostupné z: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~ZcrECw:1>
- [13] TOXNET. *HSDB* [online]. 1983, 19.10.2015 [cit. 2015-12-06]. Dostupné z: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~SXqQVI:1>
- [14] UNO, Seiichi, Jiro KOYAMA, Emiko KOKUSHI et al.. Monitoring of PAHs and alkylated PAHs in aquatic organisms after 1 month from the Solar I oil spill off the coast of Guimaras Island, Philippines. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2010, **165**(1-4), 501-515. DOI: 10.1007/s10661-009-0962-1. ISSN 0167-6369. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10661-009-0962-1>
- [15] AHMAD, S, S KABLER, L RUDD, S AMIN, J DOEHMER, C MORROW a A TOWNSEND. Cytotoxicity and mutagenicity of 5-methylchrysene and its 1,2-dihydrodiol in V79MZ cells modified to express human CYP1A1 or CYP1B1, in the presence or absence of human GSTP1 coexpression. *Toxicology Letters*. 2008, **183**(1-3), 99-104. DOI: 10.1016/j.toxlet.2008.10.008. ISSN 03784274. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427408012940>
- [16] CASAL, Carina, Graciela ARBILLA a Sergio CORRÊA Alkyl polycyclic aromatic hydrocarbons emissions in diesel/biodiesel exhaust. *Atmospheric Environment*. 2014, **96**, 107-116. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2014.07.028. ISSN 13522310. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231014005500>
- [17] RABINOWITZ, James, Stephen LITTLE a Katrina BROWN. Why does 5-methylchrysene interact with DNA as both a planar and a nonplanar polycyclic aromatic hydrocarbon? Quantum mechanical studies. *International Journal of Quantum Chemistry*. 2002, **88**(1), 99-106. DOI: 10.1002/qua.10115. ISSN 0020-7608. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/qua.10115>

- [18] IARC Monographs- Classifications. *IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER* [online]. 2015 [cit. 2015-12-06]. Dostupné z:  
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/>
- [19] MATTSSON, Åse, Maria MALMLÖF, Albrecht SEIDEL, Ulla STENIUS a Bengt JERNSTRÖM. H2AX, MDM2 and P53 phosphorylation are differently affected by bay- and fjord- region diol epoxides derived from carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 2008, 28(4-5), 392-401. DOI: 10.1080/10406630802374937. ISSN 1040-6638. Dostupné také z:  
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10406630802374937>
- [20] FLESHER, James, Jamie HORN a Andreas LEHNER The Meso-Region Theory of Aromatic Hydrocarbon Carcinogenesis. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 2015, 22(3-4), 379-393. DOI: 10.1080/10406630290027037. ISSN 1040-6638. Dostupné také z:  
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10406630290027037>
- [21] PENNING, Trevor. *Chemical carcinogenesis*. New York: Humana Press/Springer, c2011. Current cancer research. ISBN 16-173-7995-6.
- [22] PRYČEK, Jiří. *Selected derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment: Vybrané deriváty polycyklických aromatických uhlovodíků ve složkách životního prostředí : short version of Ph.D. Thesis*. [Brno: Brno University of Technology], c2008. ISBN 978-80-214-3644-2.
- [23] MOON, Yunyoung, Un-Hyuk YIM, Hong-Seok KIM, Ye-Jin KIM, Won SHIN a Inseong HWANG. Toxicity and Bioaccumulation of Petroleum Mixtures with Alkyl PAHs in Earthworms. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 2013, 19(3), 819-835. DOI: 10.1080/10807039.2012.723184. ISSN 1080-7039. Dostupné také z:  
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10807039.2012.723184>
- [24] TOBISZEWSKI, Marek a Jacek NAMIEŚNIK. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environmental Pollution*. 2012, 162, 110-119. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.10.025. ISSN 02697491. Dostupné také z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749111006051>
- [25] YUNKER, Mark B, Robie W MACDONALD, Roxanne VINGARZAN, Reginald H MITCHELL, Darcy GOYETTE a Stephanie SYLVESTRE. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*. 2002, 33(4), 489-515. DOI: 10.1016/S0146-6380(02)00002-5. ISSN 01466380. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0146638002000025>

- [26] KOČÍ, Vladimír, Tomáš MLEJNEK, Lucie OCELKA a KOCHÁNKOVÁ. Aplikace řasových biotestů pro hodnocení SPMD. *Czech Phycology*. Olomouc, 2002, (2), 129-137. ISSN 1213-3434. Dostupné také z: <http://fottea.czechphycology.cz/pdfs/fot/2002/01/16.pdf>
- [27] KOČÍ, Vladimír a Roman GRABIC. *Sborník konference Pitná voda 2008: 9. pokračování konferencí Pitná voda z údolních nádrží : 2.6.-5.6. 2008 v Táboře*. Editor Petr Dolejš, Nataša Kalousková. České Budějovice: W, 2008. ISBN 978-80-254-2034-8. Dostupné také z: <http://www.wet-team.cz/files/konference/2008/PV%20Tabor/12-Koci,Grabic.pdf>
- [28] POPL, Milan a Jan FÄHNRIK. *Analytická chemie životního prostředí*. Vyd. 4., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1999. ISBN 80-708-0336-3.
- [29] *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999. ISBN 80-902-4329-0.
- [30] *MonAirNet* [online]. 2010 [cit. 2016-03-01]. Dostupné z: <http://www.monairnet.eu/index-en.php?pg=methods--passive-air-sampling>
- [31] HARNER, Tom, Nick FARRAR, Mahiba SHOEIB, Kevin JONES a Frank GOBAS. Characterization of Polymer-Coated Glass as a Passive Air Sampler for Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science*. 2003, **37**(11), 2486-2493. DOI: 10.1021/es0209215. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0209215>
- [32] ADDECK, Amr, Kim CROES, Kersten VAN LANGENHOVE, Michael DENISON, Marc ELSKENS a Willy BAEYENS. Dioxin analysis in water by using a passive sampler and CALUX bioassay. *Talanta*. 2012, **88**, 73-78. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.10.009. ISSN 00399140. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914011008824>
- [33] VRANA, Branislav, Peter POPP, Albrecht PASCHKE a Gerrit SCHÜÜRMAN. Membrane-Enclosed Sorptive Coating. An Integrative Passive Sampler for Monitoring Organic Contaminants in Water. *Analytical Chemistry*. 2001, **73**(21), 5191-5200. DOI: 10.1021/ac010630z. ISSN 0003-2700. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac010630z>
- [34] *Interaktivní laboratoř chemie* [online]. 2016 [cit. 2016-03-14]. Dostupné z: <http://interaktivni-chemie.cz/wp-content/uploads/23-Extraction-korjk1.pdf>
- [35] *Design, construction and evaluation of a simple pressurized solvent extraction system* [online]. 2009 [cit. 2015-12-06]. ISSN 1678-4790. Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532009000500016](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532009000500016)

- [36] GARCÍA-DELGADO, Carlos, Felipe YUNTA a Enrique EYMAR. Are physico-chemical soil characteristics key factors to select the polycyclic aromatic hydrocarbons extraction procedure?. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2015, **96**(1), 87-100. DOI: 10.1080/03067319.2015.1128537. ISSN 0306-7319. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03067319.2015.1128537>
- [37] Tlakova extrakce. *Veterinární a farmaceutická univerzita Brno* [online]. 2012 [cit. 2015-12-06]. Dostupné z: <http://soubory.vfu.cz/fvhe/tlakova-extrakce/>
- [38] HAN, Yehua, Limin REN, Kai XU et al.. Supercritical fluid extraction with carbon nanotubes as a solid collection trap for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives. *Journal of Chromatography A*. 2015, **1395**, 1-6. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.03.038. ISSN 00219673. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967315004331>
- [39] RUTKOWSKA, Małgorzata, Kinga DUBALSKA, Piotr KONIECZKA a Jacek NAMIEŚNIK. Microextraction Techniques Used in the Procedures for Determining Organomercury and Organotin Compounds in Environmental Samples. *Molecules*. 2014, **19**(6), 7581-7609. DOI: 10.3390/molecules19067581. ISSN 1420-3049. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/6/7581/>
- [40] OUYANG, Gangfeng a Janusz PAWLISZYN. SPME in environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006, **386**(4), 1059-1073. DOI: 10.1007/s00216-006-0460-z. ISSN 1618-2642. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-006-0460-z>
- [41] HUERTAS-PÉREZ, José, Luisa BORDAJANDI, Berit SEJERØE-OLSEN, Håkan EMTEBORG, Andrea BAÙ, Heinz SCHIMMEL a Marta DABRIO. PAHs in baby food: assessment of three different processing techniques for the preparation of reference materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015, **407**(11), 3069-3081. DOI: 10.1007/s00216-015-8490-z. ISSN 1618-2642. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-015-8490-z>
- [42] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Vyd. 1. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [43] *Atmospheric Chemistry* [online]. 2013 [cit. 2016-03-14]. Dostupné z: <http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/AtmosphericChemistry/ch15s02.html>
- [44] SANTIUSTE, José M., Géza TARJÁN, Ede ULLRICH a József M. TAKÁCS Contribution to linearly programmed temperature gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2008, **1181**(1-2), 103-115. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.12.025. ISSN 00219673. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967307021802>

- [45] PRYČEK, Jiří, Miroslav CIGANEK a Zdeněk ŠIMEK. Development of an analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives. *Journal of Chromatography A*. 2004, **1030**(1-2), 103-107. DOI: 10.1016/j.chroma.2003.12.037. ISSN 00219673. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967303023306>
- [46] ČÁSLAVSKÝ, Josef. *Chromatografie (přednáška)* [online]. FCH VUT Brno, 2016 [cit. 16.3.2016].
- [47] ONG, Ruby a Philip MARRIOT. A Review of Basic Concepts in Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*. 2002, **40**. Dostupné také z: <http://chromsci.oxfordjournals.org/content/40/5/276.full.pdf>
- [48] *LECO corporation: Kvalitex* [online]. 1993-2016 [cit. 2016-03-16]. Dostupné z: <http://www.kvalitex.hu/kepviselt-cegek/leco-corporation>

## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

A-PAHs	Alkylderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků (Alkylderivatives of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)
ASE	Tlaková extrakce rozpouštědlem (Accelerated Solvent Extraction)
DCM	Dichlormethan
DMBA	Dimethylbenzo[a]anthracen
DMP	Dimethylfenanthren
EI	Elektronová ionizace (Electron Ionization)
EVA	Ethylenvinylacetát
FID	Plamenový ionizační detektor (Flame Ionization Detector)
GC	Plynová chromatografie (Gas Chromatography)
GC×GC TOF MS	Dvoudimenzionální plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí a analyzátozem doby letu
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
IARC	International Agency for Research on Cancer
IDL	Detekční limit přístroje (Instrumental detection limit)
IUPACK	International Union of Pure and Applied Chemistry
LC	Kapalinová chromatografie (Liquid Chromatography)
LDPE	Polyethylen s nízkou hustotou (Low Density Polyethylene)
MAE	Mikrovlnná extrakce (Microwave Assisted Extraction)
MESCO	Membrane-Enclosed Sorptive Coating
MS	Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry)
PAHs	Polycyklické aromatické uhlovodíky (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)
PCBs	Polychlorované bifenylly
PDMS	Polydimethylsiloxan
PLE	Tlaková extrakce rozpouštědlem (Pressurised Liquid Extraction)
POG	Polymer-coated Glass
PSE	Tlaková extrakce rozpouštědlem (Pressurised Solvent Extraction)
PTFE	Polytetrafluorethylen
PUF	Polyurethanová pěna (Polyurethane Foam)
RI	Retenční index (Retention Index)
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
SDME	Single Drop Microextraction
SFE	Superkritická fluidní extrakce (Supercritical Fluid Extraction)
SPE	Extrakce tuhou fází (Solid Phase Extraction)
SPMDs	Semipermeable Membrane Devices
SPME	Solid Phase Microextraction
TOF	Analýzátor doby letu (Time of Flight)
US EPA	US Environmental Protection Agency
UV	Ultrafialové záření (Ultraviolet light)

# 10 Seznam příloh

Příloha 1: Identifikované analyty ve vzorku č. 1.

Příloha 2: Identifikované analyty v první frakci vzorku č. 2.

Příloha 3: Identifikované A-PAHs a PAHs v druhé frakci vzorku č.2.

Příloha 4: Identifikované analyty v první frakci vzorku č. 3

Příloha 5: Identifikované A-PAHs a PAHs ve druhé frakci vzorku č.3.

# 11 Přílohy

*Příloha 1: Identifikované analyty ve vzorku 1.*

retenční čas [min]	analyt	sumární vzorec	Mw
22,231	5-methyltetradekan	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212
22,381	4-methyltetradekan	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212
22,529	3-methyltridecane	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198
22,716	3-methyltetradecane	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212
23,432	hexadekan	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
23,634	tetradekan	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198
23,95	nonadekan	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268
24,272	4-ethyltetradekan	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
24,674	5-methylpentadekan	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
24,822	4-methylpentadekan	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
24,963	2-methylpentadekan	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
25,148	3-methylpentadekan	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
26,992	2,6-dimethylheptadekan	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268
27,136	4-methylhexadekan	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240
27,274	2-methylnonadekan	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282
27,455	3-methylhexadecane	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240
28,096	henkosan	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296
28,56	2,3-dimethylheptadekan	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268
28,846	3-methylheptadekan	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254
29,195	4-ethyltetradecane	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
29,339	4-methylheptadecane	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254
29,468	2-methylheptadecane	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254
29,647	3-methylheptadecan	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254
30,251	nonadekan	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268

Příloha 2: Identifikované analyty v první frakci vzorku 2.

retenční čas [min]	analyt	sumární vzorec	Mw
13,214	2-undecen	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub>	154
14,06	hexylcyklopentan	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub>	154
14,225	hexylcyklopenten	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub>	152
15,387	dodecen	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	168
15,67	dodekan	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	170
15,748	(Z)-3-dodecen	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	168
15,995	(E)-3-dodecen	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	168
16,098	tridecyn	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub>	180
16,284	(E)-cyklododecen	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	166
16,688	hexylcyklohexen	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	166
16,925	cyklotetradekan	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	196
17,085	heptylcyklopenten	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	166
17,491	oktadecyn	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub>	250
18,171	tridecen	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub>	182
18,431	tetradekan	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198
18,491	(E)-3-tridecen	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub>	182
18,745	(E)- 5-tridecen	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub>	182
19,739	n-pentadekanol	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> O	228
19,86	1-oktylcyklopenten	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub>	180
20,855	cyklotetradekan	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	196
21,114	pentadekan	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212
21,159	(E)-4-tetradecen	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	196
21,406	(E)-3-tetradecene	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	196
21,536	3-oktylcyklohexen	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub>	194
21,647	1-oktylcyklohexene	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub>	194
22,942	1,7-hexadekadien	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub>	222
23,43	tridecen	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub>	182
23,699	pentadekan	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212
23,965	1-pentadecen	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210
24,041	trans-1-methyl-2-nonyl-cyklohexan	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224
24,135	3-(2-methylpropyl)cyklohexen	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138
24,273	1-nonylcyklohexen	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208
24,388	3-nonylcyklohexen	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208
24,452	cyklopentadekan	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210
25,092	n-nonylcyklohexan	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210
25,186	cyklohexadekan	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224
25,515	(E)-10-pentadecenol	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	226
25,639	(Z)-3-hexadecen	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224
26,129	hexadekan	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226
26,375	trans-9-hexadecen-1-ol	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O	240
26,759	1-decylcyklohexen	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub>	222
26,828	3-nonylcyklohexen	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208

retenční čas [min]	analyt	sumární vzorec	Mw
27,283	2-tetradecyn	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub>	194
27,55	n-heptadekanol	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> O	256
27,819	8-heptadecen	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>	238
28,163	nonadecen	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	266,5
28,483	nonadekan	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268,5
28,695	dokosen	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub>	308,6
28,765	1,4-dimethyl-2-oktadecylcyklohexan	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub>	364,7
28,996	1,3-dimethyl-(3,7-dimethyl-oktyl)cyklohexan	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	252,5
29,156	pentadekan	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212,4
29,708	hexadekanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242,4
29,774	ikosanol	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O	298,5
29,841	undecylcyklohexan	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub>	238,5
29,913	10-henkosen	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	294,6
30,244	nonadecen	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	266,5
30,429	oktadekan	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254,5
31,67	1-ikosanol	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O	298,5
31,909	9-nonadecen	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	266,5
32,429	henkosan	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296,6
33,955	10-henkosen	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	294,6
34,181	1-ikosanol	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O	298,5
37,914	heptakosan	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380,7

*Příloha 3: Identifikované A-PAHs a PAHs v druhé frakci vzorku 2.*

retenční čas [min]	analyt	sumární vzorec	Mw	plocha píku [impuls/min]
18,81	2-methylnaftalen	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>	142	3.99·10 <sup>9</sup>
19,273	1-methylnaftalen	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>	142	2.795·10 <sup>9</sup>
21,413	2-ethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	1.034·10 <sup>9</sup>
21,476	1-ethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	3.469·10 <sup>8</sup>
21,747	2,6-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	1.743·10 <sup>8</sup>
22,102	2,7-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	1.517·10 <sup>9</sup>
22,219	1,7-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	1.116·10 <sup>9</sup>
23,812	1-propylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	4.223·10 <sup>8</sup>
24,285	2-isopropylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	2.646·10 <sup>8</sup>
24,436	1,4,5-trimethylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	1.969·10 <sup>8</sup>
26,079	7-isopropyl-1-methylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub>	184	1.779·10 <sup>8</sup>
26,752	9-methyl-9H-fluoren	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub>	180	6.44·10 <sup>7</sup>
30,95	fenanthren	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>	178	2.554·10 <sup>9</sup>
31,174	anthracen	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>	178	5.678·10 <sup>8</sup>
39,231	reten	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub>	234	1.508·10 <sup>8</sup>
26,637	1-Isopropenylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub>	168	1.378·10 <sup>8</sup>
33,402	2-methylanthracen	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub>	192	1.459·10 <sup>9</sup>

*Příloha 4: Identifikované analyty v první frakci vzorku 3.*

retenční čas [min]	analyt	sumární vzorec	Mw
13,489	(E)-1,4-undekadien	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub>	152
13,667	3-hexylcyklopenten	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub>	152
16,258	(E)-1,8-dodekadien	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	166
18,289	tetradekan	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198
22,383	1-hexadekanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242
22,476	1-pentylcyklopentanol	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	156
23,251	cyklopentadekan	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210
23,331	tridecen	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub>	182
23,57	pentadekan	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212
24,321	3-nonylcyklohexen	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208
24,881	(Z)-6-pentadecen-1-ol	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	226
25,027	nonylcyklohexan	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210
25,559	(Z)-7-hexadecen	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224
25,94	heptadekan	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240
26,662	1-oktylcyklohexen	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub>	194
27,785	8-heptadecen	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>	238
25,474	cyklohexadekan	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224
28,208	heptadekan	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240
28,744	3,7,11-trimethyldodecan-1-ol	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> O	228
29,838	10-henkosen	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	249
30,301	henkosan	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296
31,957	9-nonadecen	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	266

Příloha 5: Identifikované A-PAHs a PAHs ve druhé frakci vzorku 3.

retenční čas [min]	analyt	sumární vzorec	Mw	plocha píku [impuls/min]
15,775	naftalen	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	128	5.989·10 <sup>9</sup>
18,867	2-methylnaftalen	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>	142	6.879·10 <sup>9</sup>
19,549	1-methylnaftalen	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>	142	1.618·10 <sup>9</sup>
21,589	2-ethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	5.77·10 <sup>8</sup>
21,866	2,6-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	1.368·10 <sup>9</sup>
22,204	2,7-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	20.906·10 <sup>9</sup>
22,339	1,7-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	4.288·10 <sup>9</sup>
22,802	1,6-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	1.145·10 <sup>9</sup>
22,869	2,3-dimethylnaftalen	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>	156	6.922·10 <sup>8</sup>
23,792	1-but-3-enylnaftalen	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub>	182	7.53·10 <sup>7</sup>
24,275	2-isopropylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	1.035·10 <sup>9</sup>
24,35	1,4,6-trimethylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	3.257·10 <sup>8</sup>
24,964	2,3,6-trimethylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	1.173·10 <sup>9</sup>
25,429	1,4,6-trimethylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	6.854·10 <sup>8</sup>
25,796	1,4,5-trimethylnaftalen	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170	4.874·10 <sup>8</sup>
26,108	7-isopropyl-1-methylnaftalen	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub>	184	5.058·10 <sup>8</sup>
26,571	3-isopropyl-1-methylnaftalen	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub>	184	1.844·10 <sup>8</sup>
26,62	1-isopropenylnaphthalen	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub>	168	1.043·10 <sup>7</sup>
26,756	9-methyl-9H-fluoren	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub>	180	9.059·10 <sup>7</sup>
28,111	4-isopropyl-1,6-dimethylnaftalen	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub>	198	1.844·10 <sup>8</sup>
30,887	fenanthren	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178	1.92·10 <sup>9</sup>
39,184	reten	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub>	234	3.055·10 <sup>7</sup>