

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

STANOVENÍ LINEÁRNÍCH SYNTETICKÝCH VONNÝCH LÁTEK V
ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH MATRICÍCH

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

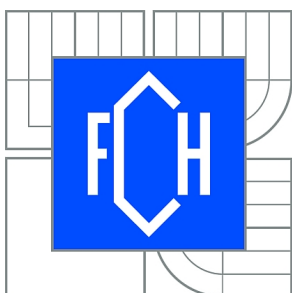
Bc. TEREZA ŠVESTKOVÁ

BRNO 2014



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

STANOVENÍ LINEÁRNÍCH SYNTETICKÝCH VONNÝCH LÁTEK V ABIOTICKÝCH A BIOTICKÝCH MATRICÍCH

DETERMINATION OF LINEAR SYNTHETIC AROMATIC COMPOUNDS IN ABIOTIC AND BIOTIC
MATRICES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. TEREZA ŠVESTKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2014



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

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0702/2012	Akademický rok: 2013/2014
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Tereza Švestková	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:		

Název diplomové práce:

Stanovení lineárních syntetických vonných látek v abiotických a biotických maticích

Zadání diplomové práce:

1. Zpracovat rešerši zaměřenou na stanovení lineárních syntetických vonných látek ve složkách životního prostředí.
2. Na základě zpracované rešerše provést výběr analytů, které budou v abiotických a biotických maticích sledovány.
3. Provést výběr vhodné metody a pomocí uměle kontaminovaných vzorků provést optimalizaci této metody.
4. Optimalizovanou metodu aplikovat na stanovení sledovaných analytů v reálných vzorcích.
5. Zhodnotit získané výsledky a porovnat je s dosud publikovanými daty.

Termín odevzdání diplomové práce: 9.5.2014

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

Bc. Tereza Švestková
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2013

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Syntetické musk sloučeniny jsou uměle vyrobené organické látky, které svou vůní připomínají pižmo (mošus). Nejnovější, a zároveň i nejméně prostudovanou skupinou jsou lineární musk sloučeniny. Tyto látky jsou přítomné např. v kosmetice, produktech osobní péče, detergentech a nejrůznějších čisticích prostředcích. Vzhledem ke svému širokému použití pronikly tyto sloučeniny do všech složek životního prostředí, zejména pak do hydrosféry. Proto se jim v posledních letech věnuje velká pozornost.

Cílem diplomové práce bylo stanovit dvanáct vybraných lineárních musk sloučenin (linalool, 2-cyclohexylethanol, fresco menthe, citronellol, HSA, isobornyl acetát, aroacet, aroflorone, allyl cyclohexyl propionát, lilial, isoamyl salicylát a hexylcinnamic aldehyd) ve vzorcích odpadních vod. Vzorky byly odebírány na přítoku a odtoku ze tří ČOV v Jihomoravském kraji s různým počtem ekvivalentních obyvatel (ČOV Brno-Modřice, ČOV Luhačovice a ČOV Hodonín).

Nejprve byla provedena optimalizace metody, která byla následně aplikována na reálné vzorky odpadních vod. Pro izolaci analytů ze vzorku byla použita metoda mikroextrakce na tuhou fázi (SPME). Pro identifikaci a kvantifikaci byla použita metoda plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS).

ABSTRACT

Synthetic musk compounds are artificial organic compounds with a smell similar to the odor of a natural musk. The most recently discovered and also the least known group of artificial musks is linear musk compounds. These substances are now often used in cosmetics, personal care products, detergents and various cleaning products. They have leaked into all the major environment components, especially into the hydrosphere. There has been great attention drawn to synthetic musk compounds in the last few years because of their environmental impact.

The aim of this thesis is to identify twelve linear musk compounds (linalool, 2-cyclohexylethanol, fresco menthe, citronellol, HSA, isobornyl acetate, aroacet, aroflorone, allyl cyclohexyl propionate, lilial, isoamyl salicylate and hexylcinnamic aldehyde) in waste water samples. The samples were taken at three different waste water treatment plants (WWTP) in South Moravian region (WWTP Brno-Modřice, WWTP Luhačovice and WWTP Hodonín). Each of these treatment plants has a different equivalent number of inhabitants.

At first, a working method was optimized, then applied on real waste water samples. Solid-phase microextraction (SPME) technique was used for the extraction of analytes. Gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS) was then used for identification and quantification of the studied compounds.

KLÍČOVÁ SLOVA

Musk sloučeniny, odpadní voda, plynová chromatografie, hmotnostní spektrometrie, mikroextrakce na tuhou fázi

KEYWORDS

Musk compounds, waste water, gas chromatography, mass spectrometry, solid phase microextraction

ŠVESTKOVÁ, T. *Stanovení lineárních syntetických vonných látek v abiotických a biotických maticích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 116 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Velmi ráda bych poděkovala vedoucí práce paní prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za podporu, velikou vstřícnost a trpělivost, odbornou pomoc a cenné rady v průběhu řešení této práce.

Poděkování patří také panu doc. Ing. Josefu Čáslavskému, CSc. za obětavou odbornou pomoc.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat Ing. Monice Bukáčkové a Ing. Michalu Štefkovi, za cenné rady a odbornou pomoc při měření experimentální části. Velice děkuji i své rodině a nejbližším za neustálou podporu.

Obsah:

1. ÚVOD	8
2. TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1 Smyslová soustava	9
2.1.1 Čich	9
2.2 Vonné látky	11
2.2.1 Historie vůní a vonných látek	11
2.2.1.1 Oleje a masti	12
2.2.1.2 Starověký Egypt	12
2.2.1.3 Řecko	13
2.2.1.4 Evropa	13
2.2.1.5 Čína	14
2.2.1.6 Indie	14
2.2.1.7 ČR a současnost	14
2.2.1.8 Produkce a množství	15
2.2.2 Rozdělení vonných látek	15
2.2.2.1 Přírodní vonné látky	16
2.2.2.2 Syntetické vonné látky	19
2.3 Musk sloučeniny	20
2.3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti	21
2.3.2 Nitromusk sloučeniny	21
2.3.3 Polycyklické musk sloučeniny	22
2.3.4 Makrocyclické musk sloučeniny	22
2.3.5 Lineární musk sloučeniny	23
2.3.6 Sledování zástupci lineárních musk sloučenin	23
2.3.6.1 Linalool	23
2.3.6.2 2-cyklohexylethanol	24
2.3.6.3 Fresco menthe	24
2.3.6.4 Citronellol	25
2.3.6.5 HSA	25
2.3.6.6 Isobornyl acetát	26
2.3.6.7 Arocet	26
2.3.6.8 Aroflorone	27
2.3.6.9 Allyl cyklohexyl propionát	27
2.3.6.10 Lilial	28
2.3.6.11 Isoamyl salicylát	28
2.3.6.12 Hexylcinnamic aldehyd	29
2.3.7 Vstup a výskyt musk sloučenin v životním prostředí	29
2.3.7.1 Hydrosféra	30
2.3.7.2 Atmosféra	31
2.3.7.3 Pedosféra	31
2.3.8 Toxicita	31
2.3.9 Degradace	33
2.3.10 Metabolizace	33
2.3.11 Bioakumulace	34

2.4	Čištění odpadních vod.....	35
2.4.1	Mechanický stupeň.....	35
2.4.2	Biologický stupeň.....	35
2.5	Stanovení musk sloučenin.....	36
2.5.1	Opatření proti kontaminaci z vnějšího prostředí.....	36
2.5.2	Odběr vzorku.....	37
2.5.3	Transport vzorku do laboratoře.....	37
2.5.4	Uchování vzorku.....	37
2.5.5	Izolace analytů z matrice.....	37
2.5.5.1	Mikroextrakce tuhou fází (SPME).....	37
2.5.6	Metody detekce, identifikace a kvantifikace.....	41
2.5.6.1	Plynová chromatografie (GC).....	41
2.5.6.2	Hmotnostní spektrometrie (MS).....	44
2.5.6.3	Spojení GC x MS.....	48
3.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	49
3.1	Použité přístroje, chemikálie, standardy.....	49
3.2	Pracovní postup.....	50
3.2.1	Příprava roztoku pro optimalizaci SPME.....	50
3.2.2	Zjištění retenčních charakteristik a hmotnostních spekter analytů.....	52
3.2.3	Optimalizace teplotního programu.....	52
3.2.4	Optimalizace mikroextrakce tuhou fází (SPME).....	53
3.2.4.1	Výchozí podmínky SPME.....	53
3.2.4.2	Výběr vhodného vlákna a provedení.....	53
3.2.4.3	Vliv vysolování.....	53
3.2.4.4	Teplota sorpce.....	54
3.2.4.5	Čas sorpce.....	54
3.2.5	Stanovení analytů v reálných vzorcích.....	55
3.2.5.1	Identifikace a kvantifikace.....	55
3.2.6	Stanovení analytických parametrů – LOD a LOQ.....	56
3.2.7	Nejistoty analytických výsledků.....	57
3.2.8	Opakovatelnost.....	57
3.2.9	Vzorkování.....	58
3.2.9.1	Specifikace vzorků.....	58
3.2.10	Čištění laboratorního skla.....	59
4.	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	60
4.1	Optimalizace teplotního programu.....	60
4.2	Optimalizace SPME.....	63
4.2.1	Aktivace vláken.....	63
4.2.2	Výběr vlákna.....	63
4.2.3	Typ extrakce.....	64
4.2.4	Vysolování.....	66
4.2.5	Teplota sorpce.....	68
4.2.6	Čas sorpce.....	69
4.2.7	Optimalizovaná metoda SPME.....	69
4.3	Stanovení analytických parametrů – LOD a LOQ.....	70
4.4	Nejistoty analytických výsledků.....	71
4.4.1	Opakovatelnost měření.....	71

4.5	Vyhodnocení reálných vzorků odpadních vod.....	72
4.5.1	ČOV Brno-Modřice	72
4.5.2	Porovnání analýz odpadní vody odebrané z ČOV Hodonín, ČOV Luhačovice a ČOV Brno-Modřice	79
4.5.3	Účinnost čistícího procesu	82
4.5.4	Kontaminace povrchových vod	83
4.5.5	Produkty osobní péče.....	85
4.5.6	Porovnání našich výsledků s údaji publikovanými v literatuře	87
5.	ZÁVĚR.....	88
6.	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	89
7.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	97
8.	SEZNAM PŘÍLOH	99
9.	PŘÍLOHY	100

1. ÚVOD

Vonné látky a jejich používání jsou známy odedávna. Již pračlověk si všiml účinků, jak na něho a také na jeho okolí různé vůně působí. Vždycky bylo snahou člověka rovněž zkrášlovat své tělo a pozitivně tak působit na opačné pohlaví. Díky své vůni se začaly vonné látky používat při nejrůznějších obřadech a ceremoniálech. Další použití našly vonné látky v lékařství, a to vzhledem ke svým léčivým účinkům, zejména na výrobu léčivých vonných olejů, mastí a parfémů.

V minulosti byly vonné látky získávány především z přírodních zdrojů. Z rostlin se vonné látky nejčastěji extrahovaly, destilovaly, případně lisovaly. Získávání vonných látek od živočichů bylo mnohem komplikovanější. Vzhledem k tomu, že při získávání vonné esence bylo mnohdy zapotřebí zvíře usmrtit, mělo to za následek ohrožení a v mnohých případech až vyhubení některých živočišných druhů. To byl také hlavní důvod, proč se odborníci zaměřili na stanovení a následnou výrobu syntetických organických sloučenin, které svou vůní a strukturou připomínaly přírodní vonné látky.

V současné době mají syntetické vonné látky v kosmetickém průmyslu i při výrobě ostatních produktů denní péče své nezastupitelné místo. Našly uplatnění jako vonné esence, které jsou přidávány do mnoha kosmetických přípravků, produktů osobní péče, čisticích prostředků aj. Do současné doby byla zpracována a publikována řada studií, ve kterých byla prokázána přítomnost musk sloučenin ve všech složkách životního prostředí.

Za zdroj primární kontaminace je považována komunální odpadní voda, kam se vonné látky dostanou v důsledku použití přípravků obsahujících tyto látky. Odpadní voda je přečišťována v čistírnách odpadních vod, které však neodstraní veškeré škodliviny z odpadní vody a následným vypouštěním do recipientu dojde ke kontaminaci okolního vodního prostředí. Z hydrosféry se syntetické vonné látky dostávají do ostatních složek životního prostředí.

Cílem této diplomové práce bylo optimalizovat analytický postup na stanovení vybraných zástupců lineárních musk sloučenin (linalool, 2-cyclohexylethanol, fresco menthe, citronellol, HSA, isobornyl acetát, aroacet, aroflorone, allyl cyclohexyl propionát, lilial, isoamyl salicylát a hexylcinnamic aldehyd) v reálných vzorcích odpadní vody. V práci budou posuzovány koncentrace sledovaných analytů jak na přítoku, tak také na odtoku ze tří čistíren odpadních vod situovaných v Jihomoravském kraji. Jsou to velkokapacitní ČOV v Brně-Modřicích a ČOV v Luhačovicích a Hodoníně.

Pro izolaci analytů bude použita metoda SPME, tj. mikroextrakce tuhou fází, pro identifikaci a kvantifikaci pravděpodobně metoda GC/MS-TOF.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Smyslová soustava

Smyslová soustava je nedílnou součástí nervové soustavy lidského organismu, který díky ní získává informace z okolního prostředí. Získaná informace je následně přenesena do centrální nervové soustavy [1, 2].

Smyslová soustava se rozděluje na pět základních smyslů: chuť, čich, sluch, hmat a zrak. Každý ze smyslů má svůj smyslový orgán (receptor), díky kterému je schopen přijímat mechanické, chemické, tepelné nebo světelné podněty ze svého vnějšího okolí. Obecně se nazývají exteroceptory. Podle druhu podnětu je rozlišujeme na [1, 2]:

- mechanoreceptory – sluch (orgán ucho), hmat (pokožka),
- fotoreceptory – zrak (orgán oko),
- chemoreceptory – chuť (chuťové pohárky na jazyku), čich (čichové buňky v nose).

2.1.1 Čich

Nauka o čichu a čichovém ústrojí se nazývá osmologie [3].

Čich je jedním z pěti základních smyslů, jehož smyslovým receptorem jsou čichové buňky. Ty se nacházejí na dobře prokrvené nažloutlé sliznici v horní části nosní dutiny. Sliznice je stále vlhká, protože do ní ústí velké množství hlenových žláz. Tato část obsahuje přibližně 20 milionů čichových buněk. Každá tato buňka je zakončena velkým množstvím řasinek, které při vdechnutí zachycují molekuly pachových látek, které jsou pomocí nervů ve formě impulsů přenášeny do dvou čichových bulbů v mozku. Zde se informace vyhodnocuje a přetváří v čichový vjem. Daný vjem musí být nejdříve porovnán s tím, co už si naše paměť pamatuje a až následně jsme schopni říci, zda je pach příjemný nebo ne. Zároveň porovnává, k čemu z toho, co už známe, se vůně nejvíce podobá.

Čich je úzce spojen s centrem emocí v mozku, a tak můžeme čichové vjemy vyhodnocovat jako příjemné nebo odpuzivé. Ze stejného důvodu jsou pachy schopné vyvolávat jasné vzpomínky spojené s určitými emocemi a ovlivňovat tak naše podvědomí [4, 5].

Kromě toho je nutno upozornit na to, že čich velmi blízce souvisí s chutí, i jejich receptory jsou si velmi podobné. Liší se především ve skupenství sledované látky. Chutí jsou zkoumány převážně kapalné vzorky (látky rozpuštěné ve vodě nebo ve slinách), čichem látky, které jsou rozptýleny ve vzduchu.

Pro velké množství živočichů je čich nejdůležitějším smyslem. Je to vývojově nejstarší smysl a např. ve srovnání s chutí je třicetkrát citlivější. Čich slouží k orientaci v prostoru, vyhledávání potravy, rozpoznání teritoria, vyhledání partnera, identifikaci nepřátel, případně ke komunikaci [6].

V přírodě u většiny živočichů nalezneme dokonce 2 čichová ústrojí. Jedno slouží hlavně ke hledání potravy, orientaci a rozeznávání teritorií. Druhé, které se nazývá vomeronazální orgán, je mnohem jemnější, a slouží ke komunikaci, páření a péči o potomky [6].

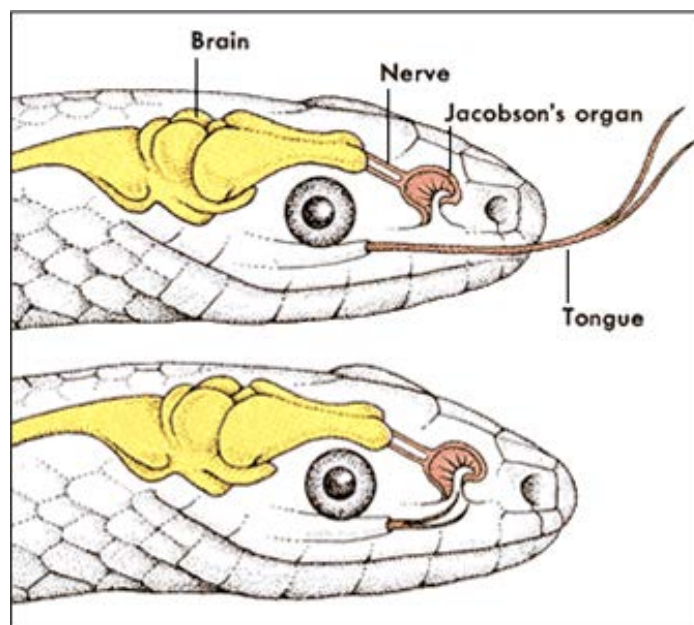
Každý živočišný druh má jinak výkonný čichový orgán. Jeho schopnost souvisí s plochou čichové sliznice a s počtem čichových buněk. V důsledku toho platí, že čím je větší membrána, tím je lepší čichový smysl. Sliznice u člověka zaujímá 4 cm² a nachází se zde přibližně 10 milionů čichových buněk, které se každé 2 měsíce obnovují. Pro srovnání, sliznice u kočky domácí zaujímá 14 cm², zatímco sliznice u psa 150 cm² a je zde přibližně 120 milionů čichových buněk. Z toho je patrné, že člověk má velmi omezené čichové

možnosti a patří mezi živočichy s nejméně rozvinutým čichem [6]. Výborný čich má žralok, medvěd, had, krysa nebo albatros. Naopak např. velrybám čichový orgán zcela chybí [7]. Nejlepší čich má motýl martináček habrový, který cítí samičku až na vzdálenost 11 km [8].

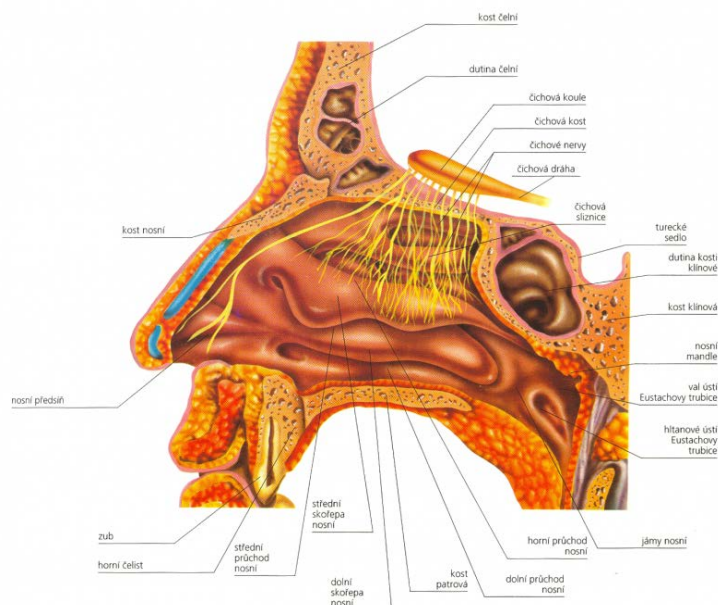
Jak již bylo řečeno, člověk má velmi špatný čich; proto, abychom pach vůbec zaregistrovali, musí být jeho koncentrace poměrně vysoká. Schopnost vnímat a rozeznávat vůně se zlepšuje s praxí. Trénovaný specialista je schopen rozeznat až 10 tisíc vůní [5].

Důležité je, aby daná aromatická látka působila na naše čichové receptory v optimální koncentraci. Pokud je koncentrace moc nízká, čichové ústrojí látku ani nezaznamená. V opačném případě, při velké koncentraci, na nás může látka působit velmi nepříjemným dojmem, který v nás může vyvolat pocit odpuzivého zápachu. Např. mentol vdechnutý při vysoké koncentraci v nás vyvolává palčivý pocit. Naopak, pokud je velmi zředěný, tak na nás působí velmi příjemně [9].

Čich je rovněž nejdůležitějším smyslem pro většinu plazů. Účel hadího jazyka byl velmi dlouho nevyřešenou záhadou. Roku 1788 Lepépede vyslovil domněnku, že jazyk u hadů je ústrojím chuti. Tato domněnka byla brzy vyvrácena, protože vědci zjistili, že hadí jazyk nemá chuťové papily. Roku 1837 byl vysloven názor, že se jedná o orgán hmatový. Později však bylo zjištěno, že u hadů obsahuje horní patro tzv. Jacobsonův orgán. Ten komunikuje jak s nosní, tak také s ústní dutinou. V podstatě se jedná o vychlípeninu dutiny ústní do dutiny nosní. Jacobsonův orgán obsahuje velmi citlivé buňky, ke kterým jsou pachové molekuly z okolního prostředí dopravovány špičkami jazyka, který má vidlicový tvar. Následně jsou získané informace z Jacobsonova orgánu předávány nervovými vlákny do mozku, který je zpracovává. Jacobsův orgán mají kromě hadů také někteří ještěři, obojživelníci a savci, např. kočky nebo kopytníci [2, 6, 10].



Obr. 1: Jacobsonův orgán [11]



Obr. 2: Čichové ústrojí [12]

2.2 Vonné látky

2.2.1 Historie vůní a vonných látek

Vonné látky a jejich využívání jsou známy odedávna. Toho, jak na nás vůně působí, si povšiml již pračlověk. Nejstarší zmínky o parfémeh pochází již z dob 4000 let př. n. l. Formou zkušeností přišel člověk na to, že to co páchne, bývá často nebezpečné nebo zkažené. A naopak, bylo zjištěno, že příjemné vůně zlepšovaly a stimulovaly náladu [13].

Prapůvodní metodu výroby vůní vynalezl člověk náhodou. Zjistil, že když spálí určité druhy dřevin, tak se uvolňuje příjemné aroma. Samotné kořeny voňavkárství a parfémů vyplývají již z názvu. Název parfém vychází z latinského „per fumum“, což v překladu znamená „kouřem“, „skrze kouř“ [13]. Na základě toho můžeme předpokládat, že člověk opravdu již od pradávna vyrůstal mezi nejrozmanitějšími vůněmi. Z historických pramenů je známo, že člověk obětoval bohům při náboženských obřadech nejrůznější věci, mimo jiné i různé specifické vůně. Používaly se vonné oleje, páčila se myrha nebo kadidlo. V eposu o Gilgamešovi se například píše: „spolu s dýmem se vznesla i libá vůně, tam vzhůru, kde sídlí bohové a ti se pak v zástupech sbíhali k obětnímu místu“ [3].

Historikové se domnívali, že původ voňavkárství našli již na nástěnných malbách chrámu královny Hatšepsovet v Thébách. Na těchto malbách je vyobrazeno Egyptské loďstvo s nákladem myrhy, kadidla, exotických a aromatických rostlin ze země Punt. Vzhledem k tomu, že myrha a kadidlo se vyskytovaly pouze v Somálsku a na jihu arabských zemí, historikové se proto domnívali, že země Punt se nacházela někde v této oblasti. V dnešní době je již známo, že tato domněnka byla mylná. Bylo prokázáno, že egyptské lodě se plavili po řece Nilu a dopluly až do Ugandy. Zde se kolem Albertova jezera údajně nacházela země Punt. Avšak ani v této oblasti se myrha ani kadidlo nevyskytovaly. Historie parfémů proto byla a stále ještě je opředená tajemstvím a mystikou [14].

V minulosti se byly první parfémy používány při náboženských obřadech, proto se za první parfém považuje kadidlo nebo myrha, které se k těmto účelům využívaly nejvíce [14].

V pozdější době se parfémy začaly využívat rovněž pro potěšení těla i ducha. Parfémy byly také obrazem jisté míry bohatství a luxusu, protože byly velmi drahé a nemohl si je dovolit

každý. Parfém se začal využívat také jako lék. Vědci z Číny a Arábie znali hojivé účinky bylin a proto začali parfémů využívat i k terapeutickým a lékařským účelům. V neposlední řadě se parfémů staly předmětem dovozu [3].

Podle historických dokumentů a současných výzkumů jsou Arabové považováni za vynálezce parfému. Je známo, že jako první vynalezli techniku destilace, a to až k výrobě čistého éterického oleje. Tento objev se připisuje lékaři a alchymistovi Ibn Sínovi, který byl také známý pod pseudonymem Avicenna. Žil kolem roku 1000 n. l. a je spojován hlavně s první výrobou růžové vody, pro kterou byl éterický olej získán pomocí alkoholu z okvětních lístků [15].

2.2.1.1 Oleje a masti

V historických dokumentech je možné sledovat vývoj používání vonných látek. Nejdříve se tyto látky používaly pouze pro rituální obřady. V pozdější době se Egypťanům podařilo spojit těkavé aromatické látky, které získaly z rostlin, s olejem a tukem a vytvořili tak vonné masti. Již ve Starém zákoně se vyskytuje zmínka o využívání vonných olejů.

Jako základ se většinou využívaly rostliny, a to buď celé, nebo jen jejich části – květy, kořeny, listy, větve, kůra nebo šťáva z rostlin. Využívaly byly například skořice, myrha, balzámovník, myrta, mandle, hena, šafrán, granátové jablko, vavřík, lilie a mnoho dalších rostlin.

Tyto rostlinné části se nejdříve mechanicky drtily, aby se z nich uvolnilo co nejvíce vonné látky a následně se tato tekutina svařovala s živočišným nebo rostlinným tukem a vodou.

Jak již bylo řečeno, také masti a oleje byly velmi drahé a byly vždy odrazem jisté míry luxusu. Masti měly dvojí výhodu, protože jednak zvláčňovaly vysušenou pokožku a rovněž dokázaly překrýt nepříjemný pach, který byl následkem nedostatečné hygieny [15].

2.2.1.2 Starověký Egypt

Starověký Egypt je nejstarší civilizací vůbec. Existoval již před téměř 6 000 lety. Tato vysoce rozvinutá a organizovaná společnost se nacházela v údolí Nilu.

Egypt je první zemí, o které víme, že zde existovala značná povědomost o aromatických látkách. Byly sem dováženy z nejrůznějších koutů světa, cedr například z Libanonu, růže ze Sýrie, z Babylonie, Etiopie a Somálska, z Peru a Indie byla dovážena myrta a skořice. Vyznačovaly se pro ně charakteristickou vůní, a proto byly ve velké míře používány při různých ceremoniálech. Důvodem jejich další aplikace byly jejich léčivé účinky, což mělo za následek použití v lékařství. Velmi často užívanou lékařskou metodou byl v tomto období proces vykuřování, v rámci kterého se používaly různé aromatické pryskyřicovité látky, jakými jsou např. myrha, kadidlo, terpentýn, mana, směs kyphi aj.

Z dob starověkého Egypta pochází i víra, že smrtí člověka život nekončí. Naopak, smrt je pouze přechod do jiného světa. Pohřební rituál balzamování, známý též jako mumifikace, používali v Egyptě již před 3 200 lety př. n. l. Mumifikace byl způsob, jak zachovat tělo po dlouhou dobu v dobrém stavu. Mumifikace se prováděla za účelem zabránění přirozeného rozkladu těla vysoušením zemřelého. Proces mumifikace trval přibližně 70 dní a měl přísná pravidla. K tomuto obřadu se využívalo nemalé množství bylin a aromatických látek.

V této době se rovněž stavěly velkolepé chrámy, které byly často zasvěceny nejrůznějším božstvům. Ta se uctívala velkolepými slavnostmi a speciálními rituály obětování. Při těchto slavnostech a rituálech se nejčastěji používalo kadidlo a myrha. Kadidlo bylo zasvěceno bohu Slunce Ra a myrha byla zase zasvěcena Měsíci [14, 16, 17].

2.2.1.3 *Řecko*

V Řecku se poprvé začaly využívat aromatické oleje a masti také pro jejich samotnou vůni, ne pouze pro kosmetické a léčebné účely. K jednotlivým vůním byla přiřazována určitá vlastnost a účinky vůně. Povzbuzující vůně měly především růže nebo hyacint, uklidňující vůně lilie nebo narcis. O violce vonné bylo známo, že má schopnost uspávat.

V Řecku se zrodila i myšlenka aromaterapie, v rámci které se začaly přidávat jednotlivé aromatické látky do lázní a začaly se využívat při masážích.

Stejně jako v Egyptě, také Řekové uctívali mnoho bohů, kterým na počest zapalovali různé vonné pryskyřice, zejména olibanum. Při všech obřadech se používaly i různé vonné oleje, kvůli kterým se macerovaly např. lilie, kosatce, levandule, majoránka, fialky nebo myrta.

Řekové používali vonné oleje hlavně po koupelích, kdy se jimi potírali. Každá část lidského těla měla vonět po něčem jiném; například paže měly vonět po mátě a vlasy po mateřídoušce. Řekové zastávali zásadu „čím více, tím lépe“ a vymýšleli různé bizarní způsoby roznášení vůně po místnosti. Namáčeli holuby do vonných vod, aby při letu rozprašovali vůni, nebo pomazávali tlapy psů vonnými mastmi, případně zdi a domy poprašovali parfémami [14, 16, 17].

2.2.1.4 *Evropa*

Také v Evropě se hojně využívalo aromatických látek. Evropané však příliš nedbali na osobní hygienu, takže parfémami používali na převonění vlastního zápachu, nebo místa, kudy se běžně chodilo, posypávali aromatickými bylinami, a to především levandulí, heřmánkem, bazalkou nebo tymiánem [14].

V Evropě vznikl i první herbář popisující nejrůznější rostliny a způsoby jejich použití. Nejznámější je herbář „De herbarum virtutibus“ (O působení bylin), jehož autorem byl Otto z Mendonu.

Další slavný spis „Herbarius“ pocházel od lékaře a mystika Paracelsa. Poznatky prezentované v tomto spise vycházely především z praktického zkoumání a pozorování přírody a rostlin [14].

V raném středověku nastal velký pokrok v destilaci rostlin, který vyvinuli Arabové. Bylo objeveno nejen velké množství voňavých rostlin ale také pižmo, které se míchalo do malty při stavbě mešit a paláců [17].

Na počátku 19. století se začaly rozšiřovat znalosti o uměle vyráběných chemických sloučeninách a zájem o přírodní esenciální oleje se začal vytrácet. Aromatické látky se začaly používat pouze jako substance dodávající vůni. Návrat k používání těchto látek, a to jako substancí s antiseptickými účinky, nastal až v období 2. světové války [14].

V 16. století se do Francie provdala za francouzského krále Kateřina Medicejská, která pocházela z Itálie. Ve Francii zavedla módu spojenou s používáním parfémů, jejichž příprava byla po celá století známa pouze Arabům. Od té doby se v Evropě začal rovněž rozmáhat obchod s parfémami [14].

Zanedlouho byla poptávka po parfémoch obrovská, což mělo za následek, že i samotné parfémami se začaly vylepšovat, tj. byly jemnější a trvalejší. To vše mělo za následek vývoj syntetických aromatických látek. Spolu s vývojem parfumerství se rozvinula také výroba konfekčních oděvů. Podle Jeana Patoua byl parfém jeden z nejdůležitějších doplňků dámských šatů [14].

2.2.1.5 Čína

V Číně běžně rostly kafrovníky, skořicovníky, některé druhy citrusů a broskve s meruňkami. Všechny ostatní aromatické látky se do Číny dovážely, stejně jako mošus, který byl hojně využíván k parfémování. Pro obchod s orientálním zbožím byla využívána suchozemská cesta, tzv. Hedvábná stezka, která vedla z města Sian přes poušť Gobi, dále přes Persii až na evropské trhy.

Jako ve všech starověkých civilizacích se aromatické látky používaly zejména k obřadním účelům, například i při modlitebních rituálech v podobě vonných tyčinek, které odměřovaly čas modlení.

Číňané jako první začali používat vonné květy k parfémování čajů. Nejčastěji se k tomuto účelu používal jasmín, který je oblíbený dodnes, případně také gardénie a chryzantémy [14].

2.2.1.6 Indie

Již pouze při samotné myšlence na Indii se nám vybaví spousta barev, květů, pestrobarevných sárí žen a zároveň také směs vůní a koření. Nutno upozornit na to, že téměř žádná jiná civilizace se Indii nevyrovná v pestrosti a množství vůní. Zvláště oblíbené zde byly růže, santal, jasmín, květy akácie nebo hena. Nejoblíbenější směsí byla směs mošusu, santalu a růže.

Využívání aromatických látek v Indii bylo velmi podobné jako v Egyptě. Vonné květy a pryskyřice byly používány jak při obřadech, tak také při léčebných metodách, tj. především při vykuřování nebo využívání některé specifické vůně [14, 16, 17].

2.2.1.7 ČR a současnost

Koncem 19. století započala průmyslová výroba aromatických látek také v ČR. Ze začátku se odehrávala převážně v malých provozovnách, jakými byl např. Odol, Bratři Janouškové, Strnad, Židlický a mnoho dalších. Od 60. let 19. století dochází, a to díky Francouzům a jejich dominanci ve výrobě voňavek, k dělení názvů vonných směsí na kolínskou vodu, toaletní vodu a parfém.

Až roku 1898 založila německá firma Schimmel&Co v dnešním Děčíně závod pro výrobu éterických olejů.

V roce 1946 byl vytvořen podnik Aroma, kam se přesunuly všechny výroby z menších provozoven, v roce 1951 došlo k odloučení závodu Fruta v Brně a ředitelství přešlo do Prahy, kde působí až dodnes.

V dnešní době vyrábí závod v Děčíně vonné látky, kompozice pro mýdla, detergenty a zubní pasty a kompozice pro veškerou parfemaci kosmetických přípravků a přípravků bytové chemie. Zároveň je zde možné zakoupit 30 druhů silic, kafr a mentol [18].

2.2.1.8 *Produkce a množství*

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.2.3, produkce aromatických látek se postupem času zvyšovala. Bylo to dáno stále se snižující cenou a velkou dostupností těchto látek. Zároveň nebyl znám a ani zkoumán žádný vliv na člověka nebo na okolní prostředí. Proto se tyto aromatické látky postupně hromadily ve všech složkách ekosystému.

V roce 1987 dosahovala produkce musk xyleny a musk ketonu, jakožto dvou nejhojněji využívaných syntetických aromatických látek, rekordních 2500 tun/rok. Od tohoto roku produkce postupně klesala a v roce 1996 dosahovala produkce již jen 2000 tun/rok.

V roce 1980 bylo publikováno v literatuře, že aromatické látky mají vysoký bioakumulační potenciál ve vodním prostředí. Proto bylo v Japonsku zakázáno přidávání musk xyleny jako ingredience do komerčních prostředků určených pro domácnost. V roce 1993 se v Japonsku konal seminář, na kterém bylo poukázáno na značný nedostatek informací týkající se toxicity a zejména nepříznivého vlivu syntetických vonných látek na životní prostředí. Po ukončení tohoto semináře se na podkladě nových informací přidala k Japonsku také německá kosmetická společnost, která částečně upustila od používání těchto látek. Do dnešního dne nejsou známy dostatečné informace o jejich chronické toxicitě, ekotoxicitě, jejich metabolizaci, především vzhledem k jejich dlouhému poločasu rozpadu, které jsou nezbytné pro konečné posouzení rizik [19].

2.2.2 **Rozdělení vonných látek**

Vonné látky lze rozdělit podle několika kritérií:

Podle původu:

- přírodní,
- syntetické.

Podle obsahu vonné esence:

- parfém,
- parfémová voda,
- toaletní voda,
- kolínská voda,
- splash cologne.

Podle původu se vonné látky dělí na přírodní a syntetické. Přírodní vonné látky se dále rozdělují na rostlinné a živočišné, syntetické vonné látky na přírodně identické a na umělé.

Zcela odlišným dělením, které využívají převážně parfuméri, je dělení podle obsahu vonné esence, viz Tabulka 1. Pro výrobu těchto vonných přípravků jsou nezbytné dvě základní složky. První z nich je alkohol. Jedná se o dobře rafinovaný, koncentrovaný 96% ethanol, který se podle potřeby ředí vodou. Do něho jsou přidávány vonné složky. Podle procentuálního obsahu alkoholu a vonných složek klasifikujeme vůně do 5 základních kategorií.

Tabulka 1: Rozdělení vonných látek dle procentuálního zastoupení parfémové kompozice [9]

Název		Koncentrace vonné složky (%)	Koncentrace alkoholu (%)	Doba trvání vůně (hod)
Parfum de Toilette	Parfém	15 – 30	90 – 96	6
Eau de Parfum	Parfémová voda	8 – 15	85 – 90	3 – 5
Eau de Toilette	Toaletní voda	4 – 8	cca 80	2 – 4
Eau de Cologne	Kolínská voda	3 – 5	cca 70	2
Splash Cologne		1 – 3	50 – 70	

2.2.2.1 Přírodní vonné látky

Všechny vonné látky v přírodě a v našem okolí produkují rostliny a živočichové. Většina rostlinných vůní na nás působí pozitivně a je nám příjemná. Rostlinné vůně nás zároveň stimulují k lepší náladě, kladně působí na naši psychiku a pozitivně působí rovněž na náš výkon. Naopak vonné látky, které jsou získávány od živočichů, nám zpočátku vůbec nevoní, spíše páchnou. Avšak jak již bylo řečeno; jestli nám daná látka voní nebo ne, záleží především na její koncentraci. A to platí právě pro vonné látky izolované ze živočišných organismů [9].

Rostlinné vonné látky

V dnešní době již bylo popsáno přibližně 200 tisíc druhů rostlin, avšak jen 200 z nich může být využito pro výrobu parfémů. Mezi nejvíce využívané patří např. anýz, badyán, bazalka, citrusy, estragon, eukalypt, fialka, hřebíček, jasmín, jehličnany, levandule, muškát, myrha, rozmarýn, růže, skořice, vanilka aj. [9].

Rostliny, jejichž aromatické látky jsou využívány, se pěstují po celém světě. Některé rostou v oblastech s tropickým podnebím nebo v subtropickém pásmu, jiné zase v oblastech mírného klimatu [20].

Pro získávání vonných látek z rostlin by bylo ideální použít čerstvé rostliny. Většinou se nevyužívá rostlina celá, protože potřebné aromatické látky se mohou nacházet jen v nějakých jejích částech, např. v listech, květech, plodech, kůře nebo v kořenech. Čerstvé rostliny mohou velmi rychle podléhat znehodnocení, a proto je musíme konzervovat. Nejčastěji se konzervují sušením. Usušená rostlina, případně její část, se nazývá droga [20].

Z těchto drog se dá připravit extrakt. Spařením vřelou vodou a následným vyluhováním získáme nálev, který vaříme a následnou filtrací přes husté síto a mul odstraníme pevný podíl [20].

Účinné látky obsažené v rostlinách

Účinné látky obsažené v rostlinách se dají rozdělit do dvou velkých skupin:

- produkty primárního metabolismu,
- produkty sekundárního metabolismu.

Produkty primárního metabolismu jsou nezbytně nutné pro růst rostliny, a to jako zdroj energie. Do této skupiny patří cukry (od monosacharidů až po polysacharidy), tuky a oleje, aminokyseliny, peptidy (bílkoviny) a enzymy [20].

Produkty sekundárního metabolismu jsou chemicky mnohem složitější než produkty primárního metabolismu. Bez těchto látek se může rostlina dočasně obejít. Využívá je pouze

občas jako látky zásobní. K produktům sekundárního metabolismu patří glykosidické sloučeniny, zejména terpeny, steroidy, hořčiny, alkaloidy, silice, pryskyřice a třísloviny [20].

Produkty sekundárního metabolismu vznikají pouze za předpokladu, že má rostlina dostatek produktů primárního metabolismu a má k jejich tvorbě optimální podmínky, tj. dostatek světla, vláhy a optimálního tepla [9, 20].

V rostlinách vznikají vonné látky dvěma různými způsoby [9]:

- biogenickým (mevalonátovým) procesem, při kterém vznikají terpenické látky kondenzací isoprenových jednotek za přítomnosti specifického enzymu,
- šikimátovým (fenylpropanovým) procesem, při kterém z primárního produktu – glukózy, vznikají vonné látky, které mají ve své molekule aromatické jádro.

Získávání přírodních aromatických látek

Extrakce

Jedním z nejstarších způsobů, jak izolovat vonnou látku z rostlin, je extrakce. Vonné látky byly nejprve adsorbovány do tuků nebo olejů za vzniku vonné masti. Tato metoda se nazývá anflenáž a využívá se převážně na získávání silic z květů. Na vrstvu tuku, která je nanesena na skle nebo na vypnutém plátně, se opakovaně kladou čerstvě natrhané květy. Silice, která se z květů vypařuje, je zachycována na vrstvě tuku. Tomuto nasycenému tuku se říká pomáda. Pomáda se následně extrahuje alkoholem, vymrazí se, zfiltruje a vznikne nám tzv. laváž. Po oddestilování ethanolu nám zůstane absolutní silice. Tato metoda je velmi náročná a nákladná, proto se využívala jen málo, a to pouze pro výrobu zvláště finančně nákladných parfémů [9].

Extrakce vysokovroucími organickými rozpouštědly

V dnešní době se převážně využívá extrakce vysokovroucími organickými rozpouštědly. Rostlinný materiál je vložen do extraktoru, kterým prochází páry rozpouštědla, které jsou následně vedeny do destilační aparatury. Tam páry kondenzují na polotuhou hmotu, která obsahuje voskovité látky zvané stearopten, ale také námi požadované vonné silice. Tyto dvě složky se oddělují pomocí alkoholu. Tímto postupem se získá nejkoncentrovanější, velmi čistá a velmi drahá vonná esence, která se nazývá absolut [9].

Destilace vodní parou

Druhý nejvyužívanější způsob pro získávání silic je destilace s vodní parou. Rostlinný materiál, který je zalitý vodou, se zahřívá v destilační aparatuře. V jímaném destilátu je obsažena i silice, která tvoří olejovitou vrstvu. Ta je následně oddělena, vysušena a dále se zpracovává až do výsledného produktu [9].

Lisování

Dalším způsobem je lisování. Tento postup je používán při získávání silic z citrusových slupek. Slupky se rozdrtí a odstředivou silou je získán olej [9].

Silice

To, díky čemu nám květy, ale i další části rostliny voní, způsobují právě silice. Jsou to kapalné, olejovité, těkavé látky, které se vyznačují charakteristickou vůní. Jsou špatně rozpustné ve vodě, avšak v organických rozpouštědlech se rozpouští velmi dobře. Silice se v rostlinách nachází ve speciálních siličních buňkách, žlázkách a v mezibuněčných prostorech [9, 20].

Silice tvoří základ pro průmyslovou výrobu vonných látek. Roční produkce silic je přibližně 200 tisíc tun, ze které se asi jedna desetina využije v parfumerii.

Pryskyřice

Pryskyřice jsou velmi podobné silicím. Vznikají při povrchovém poranění rostliny. Mají tuhou konzistenci [20].

Třísloviny

Třísloviny jsou dusíkaté látky, které jsou velmi nestálé. Snadno oxidují nebo polymerizují a následně vytvářejí nerozpustné komplexy [20].

Živočišné vonné látky

Živočišné vonné látky nenabízejí tak velkou škálu vůní, jako rostlinné vonné látky, avšak rozhodně nejsou méně významné. Naopak jsou velmi důležité, protože slouží jako fixátory, které dodávají parfému větší trvanlivost.

Většina živočišných vonných látek nepatří mezi příjemně vonící látky. Na naše čichové ústrojí působí nepříjemně, pokud jsou ve vysoké koncentraci, v malé koncentraci nám mohou dokonce i vonět.

Nejnámější živočišné vonné látky jsou ambra, mošus, cibet a kastoreum. Bohužel vysoká poptávka po těchto látkách téměř způsobila vyhynutí jejich producentů, tj. vorvaně, kabara pižmového, cibetky a bobra [9].

Kastoreum

Kastoreum je obsaženo ve dvou asi 10 cm dlouhých žlázkových váčcích, v tzv. bobřím stroji. Tyto žlázy se nacházejí těsně vedle pohlavních orgánů bobrů evropských. Kastoreum je tmavohnědý sekret.

Po tom, co je bobr evropský usmrcen, jsou váčky odděleny a usušeny. Jejich obsah po uschnutí ztmavne a ztvrdne. Usušené váčky se rozřezají a vyextrahují těkavými organickými rozpouštědly. Extrakt se zahustí, rozředí ethanolem, vymrazí, přefiltruje a ethanol se oddestiluje. Kastoreum je dále zpracováváno na residoid kastoreum nebo na kastorovou tinkturu.

Kastoreum se nejčastěji používá jako fixátor kompozic pánských vůní [9].

Cibet

Cibet je velmi páchnoucí výměšek, který se nachází blízko řitního otvoru cibetky. Cibetka žije v různých oblastech severní Afriky, v Etiopii a v některých krajích Indie a Číny.

Lze ho získat i bez usmrcení zvířete. Surový cibet je žlutá až žlutohnědá hmota, která má konzistenci masti. Cibet je potom zpracováván na residoid nebo na lihovou tinkturu, která po uzrání ve velmi malé koncentraci slouží pro zjemnění a fixaci mnoha parfémů [9].

Pižmo (mošus)

Mošus se nachází ve váčku, který mají pouze samci kabara pižmového, který se také nachází v blízkosti pohlavních orgánů. Kabar pižmový žije ve vysokohorských oblastech Tibetu, Mongolska a Koree.

Surový mošus je páchnoucí hmota s konzistencí masti. Získaný surový mošus je většinou zpracováván na lihovou tinkturu. Mošus je jedna z nejintenzivněji vonících vonných látek a bývá aplikována pouze do nejdražších parfémů [9, 14].

Ambra

Ambra vzniká po poranění trávicího ústrojí vorvaně. Poranění vzniká převážně při polykání potravy, která obsahuje nějakou ostrou část; například to mohou být krabi nebo tzv. zuby sépie.

Surová ambra, kterou vorvaňi vyvrhují, je stříbřitě šedá a nemá příliš příjemnou vůni. Pokud se ambra nacházela delší dobu v moři, změní se její barva na tmavošedou až černou, a vyznačuje se pronikavou vůní.

Ze surové ambry se vyrábí ambrová tinktura. Tato tinktura se nechá zrát, obvykle až několik měsíců, aby získala svoji typickou jemnou, sametovou vůni. Používá se ke zjemnění a fixaci nejdražších parfémů [9].

2.2.2.2 Syntetické vonné látky

Po celá staletí se dříve v parfumerii využívaly výhradně přírodní vonné látky. Postupem času se zvyšovala poptávka po těchto látkách, případně po výrobcích, které tyto látky obsahovaly. To mělo za následek ohrožení, v některých případech skoro až vyhubení některých živočišných druhů. To byl také hlavní důvod, proč se odborníci zaměřením na výrobu parfémů začali ve svých výzkumech věnovat izolaci a stanovení struktury přírodních vonných látek. Tento postup nebyl vždy zcela úspěšný, a proto se další výzkumy zaměřily na možnost výroby chemicky podobných syntetických vonných látek.

Do dnešní doby se chemikům podařilo vyrobit několik desítek tisíc vonných látek, které jsou nedílnou součástí běžného života. Pozitivním důsledkem výroby syntetických vonných látek bylo značné zlevnění konečných produktů, tj. především parfémů.

Existuje i řada látek, které se v přírodě nacházejí, avšak jejich izolace z rostlinné matrice je časově a finančně náročná, a proto se převážně aplikují jako syntetické. Mezi nejdůležitější syntetické vonné látky patří kumarin, vanilin a heliotropin.

Syntetické vonné látky se rozdělují do dvou velkých skupin, na přírodně identické vonné látky a na umělé vonné látky [9].

Přírodně identické vonné látky

Přírodně identické vonné látky jsou látky, které jsou uměle připraveny, avšak po chemické stránce jsou identické s látkami, které se v přírodě běžně vyskytují.

Jsou to vlastně přesné kopie přírodních látek. Příkladem přírodně identických vonných látek je např. vanilin. Díky tomu, že je známá jeho chemická struktura, je možné provést syntézu molekuly vonné látky a následně lze tuto vonnou látku průmyslově vyrábět [9].

Umělé vonné látky

Druhou skupinu tvoří tzv. umělé vonné látky. To jsou ty vonné látky, které jsou rovněž synteticky připraveny, avšak v přírodě je nenalezneme. V podstatě se jedná o úplně novou substanci. Tyto látky byly většinou objeveny náhodně, obvykle jako vedlejší produkt chemické reakce.

Specifickou skupinou patřící do umělých vonných látek jsou tzv. musk sloučeniny. Jsou to syntetické náhražky přírodní živočišné vonné látky – pižma [9].

2.3 Musk sloučeniny

Musk sloučeniny patří do skupiny syntetických vonných látek, a proto bývají obvykle označovány jako syntetické analogy pižma [21].

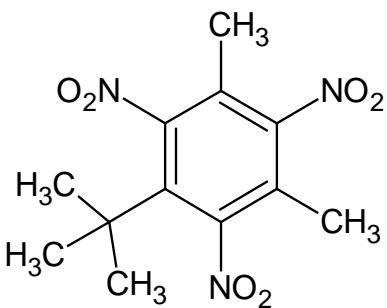
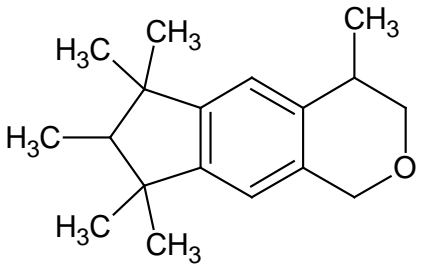
Do určité míry je můžeme zařadit mezi antropogenní persistentní kontaminanty se schopností akumulace v životním prostředí. Jsou velmi rozšířené, v podstatě jsou obsaženy všude kolem nás. Najdeme je v přípravcích osobní péče, parfémeh, ale také v mycích prostředcích, včetně těch nejlevnějších [21].

Musk sloučeniny se na základě chemické struktury dělí do čtyř základních skupin:

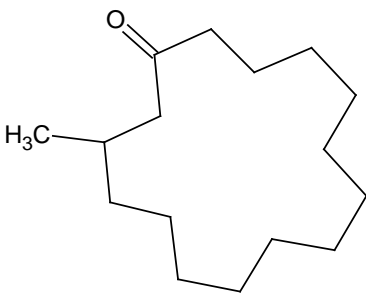
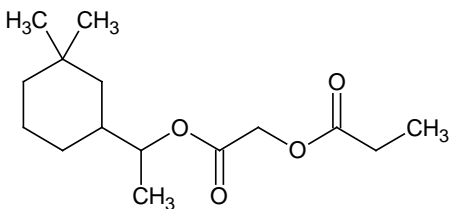
- nitromusk sloučeniny,
- polycyklické musk sloučeniny,
- makrocyclické musk sloučeniny,
- lineární musk sloučeniny.

Jejich vynikající vlastností je chemická stabilita. Díky ní se v kosmetických i ostatních komerčních výrobcích nemění daný vonný tón. Výroba těchto látek je nenáročná, a proto jsou cenově dostupné i pro širokou veřejnost. Díky stále se zvyšující spotřebě se zvyšovala rovněž produkce těchto látek. To vedlo k úvahám, že by tyto látky mohly mít také negativní dopad na některé složky životního prostředí [21].

Tabulka 2: Vybraní zástupci nitromusk a polycyklických sloučenin [22, 23]

	Nitromusk sloučeniny	Polycyklické sloučeniny
Strukturní vzorec		
Triviální název	Musk xylen	Galaxolid
Molekulový vzorec	$C_{12}H_{15}N_3O_6$	$C_{18}H_{26}O$
CAS	81-15-2	1222-05-5

Tabulka 3: Vybraní zástupci makrocyklických a lineárních musk sloučenin [24, 25]

	Makrocyklické sloučeniny	Lineární musk sloučeniny
Strukturní vzorec		
Triviální název	Muscone	Romandolid
Molekulový vzorec	C ₁₆ H ₃₀ O	C ₁₅ H ₂₆ O ₄
CAS	541-91-3	236391-76-7

2.3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

U většiny syntetických musk sloučenin byla prokázána odolnost vůči fotodegradaci, tepelné degradaci a biodegradaci. Vzhledem k jejich stabilitě je můžeme zařadit mezi persistentní organické polutanty (POPs). Jsou to semivolatilní organické látky a jejich těkavost je závislá na jejich chemické struktuře.

Díky svému nepolárnímu charakteru jsou špatně rozpustné ve vodě. Naopak velmi dobře se rozpouštějí v organických rozpouštědlech. Protože patří mezi lipofilní sloučeniny, mohou snadno procházet buněčnými membránami a následně se bioakumulovat v tukových tkáních.

Relativní molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí od 200 do 300.

2.3.2 Nitromusk sloučeniny

Roku 1988 byla zcela náhodou objevena první nitromusk sloučenina, která byla nazvána Bauerovo pižmo. Tento objev se podařil Albertu Bauerovi, a to při jeho pokusech zaměřených na zvýšení účinnosti trinitrotoluenu.

Nitromusk sloučeniny jsou z chemického hlediska sloučeniny, které mají ve své struktuře zakomponovanou jednu nebo více nitro skupin substituovaných na benzenu.

Protože jejich výrobní náklady byly nízké, začaly se velmi rychle rozšiřovat a v hojně míře využívat. Koncem 20. století jejich produkce začala razantně klesat. Důvodem bylo především to, že v roce 1980 byly tyto analyty poprvé detekovány ve vzorcích vody a zejména v biotě. Tento objev učinili Japonci, kteří je prokázali v abiotických a biotických složkách vodního ekosystému na řece Tama nedaleko Tokia v Japonsku. Od této doby jsou tyto látky v životním prostředí sledovány. Mnohé z nich již byly, a to vzhledem ke své toxicitě a karcinogenitě zakázány, u ostatních tyto účinky ještě nebyly prokázány, avšak stále se testují [26].

Mezi nejvýznamnější zástupce nitromusk sloučenin patří musk xylen, musk keton, musk ambrette, musk moskene a musk tibetene [21, 22].

2.3.3 Polycyklické musk sloučeniny

Po omezení používání nitromusk sloučenin se začaly nejvíce aplikovat polycyklické musk sloučeniny. Používaly se téměř do všech vůní výrobků, jakými jsou parfémy, ostatní kosmetika nebo prací prostředky [27].

Polycyklické musk sloučeniny jsou po chemické stránce deriváty indanu a tetralinu, které jsou vysoce substituované, a to převážně methylovými skupinami [27].

Produkce těchto látek se každoročně zvyšovala. V roce 1987 tvořily polycyklické musk sloučeniny již 61 % celosvětového trhu s musk sloučeninami, s roční produkcí 4300 tun a v roce 1996 již 70 % celosvětového trhu s roční produkcí 5600 tun [27].

Již v roce 1990 však bylo prokázáno, že polycyklické musk sloučeniny mohou také negativně působit na složky životního prostředí. V důsledku toho se jejich produkce snížila, v roce 2000 činila roční produkce již pouze 4000 tun a úroveň jejich negativního dopadu na životní prostředí začala být kontrolována.

Mezi nejvýznamnější zástupce polycyklických musk sloučenin patří galaxolid, tonalid, versalid a celestolid [27].

2.3.4 Makrocyclické musk sloučeniny

V roce 1920 byl Leopold Ruzicka z ETH v Curychu kontaktován majitelem malé voňavkářské společnosti Philippem Chuitem, který chtěl poznat strukturu látky, která je zodpovědná za mošusovou vůni. Leopoldu Ruzickovi se podařilo tuto strukturu popsat a rovněž se mu v roce 1926 podařilo poprvé syntetizovat malé množství látky, tzv. Exaltonu. V roce 1939 dostal za svůj objev Nobelovu cenu za chemii.

Tento objev odstartoval vývoj a výrobu dalších makrocyclických musk sloučenin, které svojí vůní připomínaly pižmo. Vzhledem ke své identické vůni, která se v přírodě získává z kabara pižmového, jsou tyto látky zařazeny mezi přírodně identické syntetické vonné látky.

Na začátku vývoje byla výtěžnost reakce na získání Exaltonu pouze 2 %. Postupnou optimalizací reakčního procesu výroby se podařilo dosáhnout 60 až 70% výtěžnosti. Vzhledem ke své malé výtěžnosti a složitému výrobnímu procesu byly makrocyclické sloučeniny pro větší komerční rozšíření velmi drahé a proto se začaly průmyslově vyrábět až koncem devadesátých let minulého století [28].

Makrocyclické musk sloučeniny jsou z hlediska chemické struktury sloučeniny, které mají více jak 15 atomů uhlíku a jsou vzájemně propojeny do cyklu. Kromě toho mají ve své molekule ketonovou nebo laktonovou skupinu, případně obě dohromady. Velikost cyklu ovlivňuje jejich vůni. Platí, že čím více uhlíků má, tím výrazněji voní. Zároveň, a to díky struktuře, která se podobá přírodním vonným látkám, jsou snáze biodegradovatelné ze životního prostředí.

V porovnání s nitromusk sloučeninami a polycyklickými musk sloučeninami jsou méně nebezpečné a jsou šetrnější pro životní prostředí, avšak vzhledem k jejich vysoké ceně se jejich výroba příliš nerozšiřuje a dosud úplně nenahradily nitro a polycyklické musk sloučeniny [29].

Mezi nejvýznamnější zástupce makrocyclických musk sloučenin patří mascon, ambretolid, ethylen brassilate nebo globalid.

2.3.5 Lineární musk sloučeniny

Lineární musk sloučeniny jsou také známy jako alicyklické, alifatické nebo cykloalkyl estery. Je to nejnovější skupina vonných látek, která se svojí strukturou výrazně liší od ostatních již specifikovaných skupin.

Důvodů pro jejich objevení a výrobu je hned několik. V první řadě to byla snaha objevit sloučeniny, které by byly přívětivější pro životní prostředí než nitromusk sloučeniny a polycyklické sloučeniny. Makrocyklické musk sloučeniny jsou sice mnohem šetrnější než předchozí dvě zmíněné skupiny, avšak, jak již bylo zmíněno v kapitole 2.3.4., jejich výroba je velmi nákladná. S tím souvisí i druhý hlavní důvod pro přípravu nového typu musk sloučenin, tj. nižší výrobní cena [29].

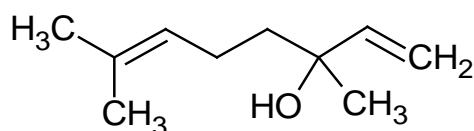
V roce 1975 byla syntetizována první lineární musk sloučenina, která dostala název cyclomusk. Od ní potom byla v roce 1990 odvozena sloučenina helvetolid. O 10 let později byly popsány další lineární musk sloučeniny, romandolid a citronelyl oxalát, které se začaly komerčně využívat [30].

Vzhledem k tomu, že se jedná o poměrně novější chemické sloučeniny, existuje prozatím málo informací o výskytu a osudu těchto lineárních musk sloučenin.

Mezi nejvýznamnější zástupce lineárních musk sloučenin patří cyclomusk, helvetolid, romandolid, aroct nebo linalool [21].

2.3.6 Sledování zástupci lineárních musk sloučenin

2.3.6.1 Linalool

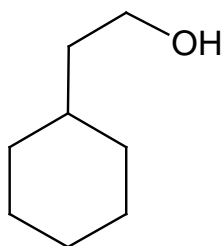


Obr. 3: Strukturální vzorec linaloolu [31]

Tabulka 4: Základní vlastnosti linaloolu [31, 32]

IUPAC název	3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol
CAS	126–90–9
Molekulový vzorec	C ₁₀ H ₁₈ O
Molekulová hmotnost	154,25 g·mol ⁻¹
Hustota	0,858 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25 °C)	683,7 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	3,38

2.3.6.2 2-cyklohexylethanol

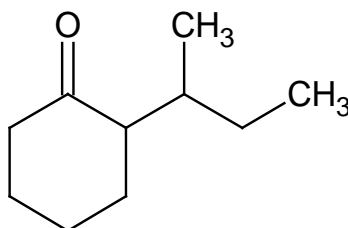


Obr. 4: Strukturní vzorec 2-cyklohexylethanolu [33]

Tabulka 5: Základní vlastnosti 2-cyklohexylethanolu [33, 34]

IUPAC název	(2-Hydroxyethyl)cyclohexane
CAS	4442-79-9
Molekulový vzorec	C ₈ H ₁₆ O
Molekulová hmotnost	128,21 g·mol ⁻¹
Hustota	0,921 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25 °C)	1752 mg·l ⁻¹
Log K _{OW}	2,62

2.3.6.3 Fresco menthe

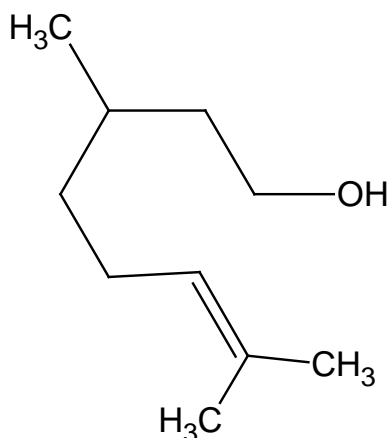


Obr. 5: Strukturní vzorec fresco menthe [35]

Tabulka 6: Základní vlastnosti fresco menthe [35]

IUPAC název	2-sec-Butylcyclohexanone
CAS	14765-30-1
Molekulový vzorec	C ₁₀ H ₁₈ O
Molekulová hmotnost	154,25 g·mol ⁻¹
Hustota	0,912 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25 °C)	222,7 mg·l ⁻¹
Log K _{OW}	2,94

2.3.6.4 Citronellool

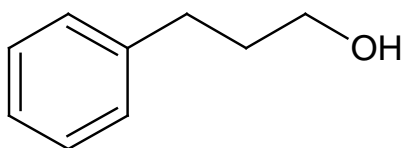


Obr. 6: Strukturální vzorec citronellolu [36]

Tabulka 7: Základní vlastnosti citronellolu [36]

IUPAC název	3,7-dimethyloct-6-en-1-ol
CAS	106-22-9
Molekulový vzorec	C ₁₀ H ₂₀ O
Molekulová hmotnost	156,27 g·mol ⁻¹
Hustota	0,855 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25 °C)	105,5 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	3,91

2.3.6.5 HSA

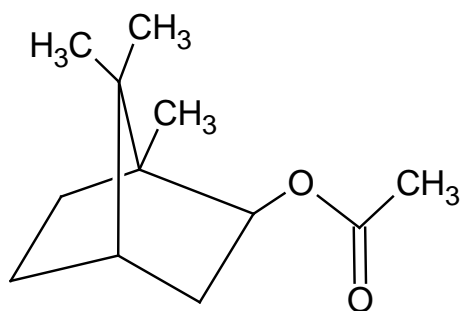


Obr. 7: Strukturální vzorec HSA [37]

Tabulka 8: Základní vlastnosti HSA [37]

IUPAC název	3-phenyl-1-propanol
CAS	122-97-4
Molekulový vzorec	C ₉ H ₁₂ O
Molekulová hmotnost	136,19 g·mol ⁻¹
Hustota	1,9 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě	5680 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	1,88

2.3.6.6 Isobornyl acetát

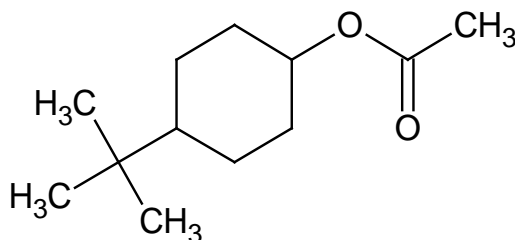


Obr. 8: Strukturální vzorec isobornyl acetátu [38]

Tabulka 9: Základní vlastnosti isobornyl acetátu [38, 39]

IUPAC název	[(1R,3S,4S)-4,7,7-trimethyl-3-bicyclo[2.2.1]heptanyl] acetate
CAS	125-12-2
Molekulový vzorec	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
Molekulová hmotnost	196,29 g·mol ⁻¹
Hustota	0,983 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25°C)	9,721 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	3,86

2.3.6.7 Arocet

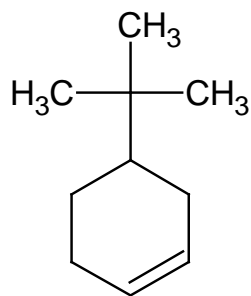


Obr. 9: Strukturální vzorec aroacetu [40]

Tabulka 10: Základní vlastnosti aroacetu [40]

IUPAC název	2-tert-Butylcyclohexyl acetate
CAS	88-41-5
Molekulový vzorec	C ₁₂ H ₂₂ O ₂
Molekulová hmotnost	198,30 g·mol ⁻¹
Hustota	0,934 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 20 °C)	90 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	4,42

2.3.6.8 Aroflorone

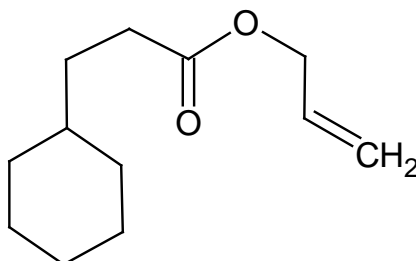


Obr. 10: Strukturální vzorec arofloronu [41]

Tabulka 11: Základní vlastnosti arofloronu [41]

IUPAC název	4- <i>tert</i> -amylcyclohexanone
CAS	16587-71-6
Molekulový vzorec	C ₁₁ H ₂₀ O
Molekulová hmotnost	168,26 g·mol ⁻¹
Hustota	0,906 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25 °C)	2,212 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	4,74

2.3.6.9 Allyl cyklohexyl propionát

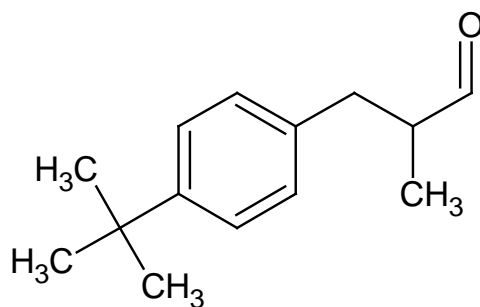


Obr. 11: Strukturální vzorec allyl cyklohexyl propionátu [42]

Tabulka 12: Základní vlastnosti allyl cyklohexyl propionátu [42, 43]

IUPAC název	Allyl 3-cyclohexylpropanoate
CAS	2705-87-5
Molekulový vzorec	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
Molekulová hmotnost	196,29 g·mol ⁻¹
Hustota	0,948 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25°C)	6,949 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	3,80

2.3.6.10 Lilial

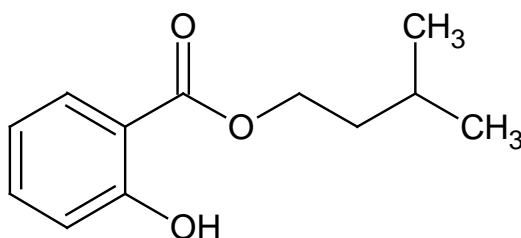


Obr. 12: Strukturální vzorec lilialu [44]

Tabulka 13: Základní vlastnosti lilialu [44]

IUPAC název	3-(4- <i>tert</i> -butylphenyl)-2-methylpropanal
CAS	80-54-6
Molekulový vzorec	C ₁₄ H ₂₀ O
Molekulová hmotnost	204,31 g·mol ⁻¹
Hustota	0,93 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25°C)	7,859 mg·l ⁻¹
Log K _{OW}	4,36

2.3.6.11 Isoamyl salicylát

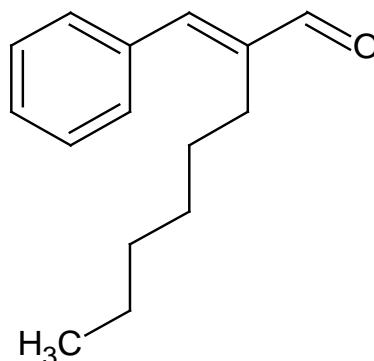


Obr. 13: Strukturální vzorec isoamyl salicylátu [45]

Tabulka 14: Základní vlastnosti isoamyl salicylátu [45]

IUPAC název	3-methylbutyl-2-hydroxybenzoát
CAS	87-20-7
Molekulový vzorec	C ₁₂ H ₁₆ O ₃
Molekulová hmotnost	208,25 g·mol ⁻¹
Hustota	1,083 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25°C)	21,89 mg·l ⁻¹
Log K _{OW}	4,49

2.3.6.12 Hexylcinnamic aldehyd



Obr. 14: Strukturální vzorec hexylcinnamic aldehydu [46]

Tabulka 15: Základní vlastnosti hexylcinnamic aldehydu [46]

IUPAC název	(2E)-2-Benzylideneoctanal
CAS	101-86-0
Molekulový vzorec	C ₁₅ H ₂₀ O
Molekulová hmotnost	216,32 g·mol ⁻¹
Hustota	0,95 g·cm ⁻³
Rozpustnost ve vodě (při 25 °C)	2,75 mg·l ⁻¹
Log K _{ow}	4,82

2.3.7 Vstup a výskyt musk sloučenin v životním prostředí

Celkový koloběh a chování musk sloučenin v životním prostředí jsou odvozeny od jejich fyzikálních a chemických vlastností. Vzhledem k jejich stabilitě se špatně odbourávají a ve stopových množstvích je lze detekovat ve všech složkách životního prostředí. Díky jejich schopnosti bioakumulace jsou obsaženy i v potravním řetězci.

Za primární zdroj kontaminace je považována odpadní voda z městských aglomerací. To je hlavní důvod, že jsou musk sloučeniny sledovány zejména v hydrosféře, v menší míře také v atmosféře a pedosféře.

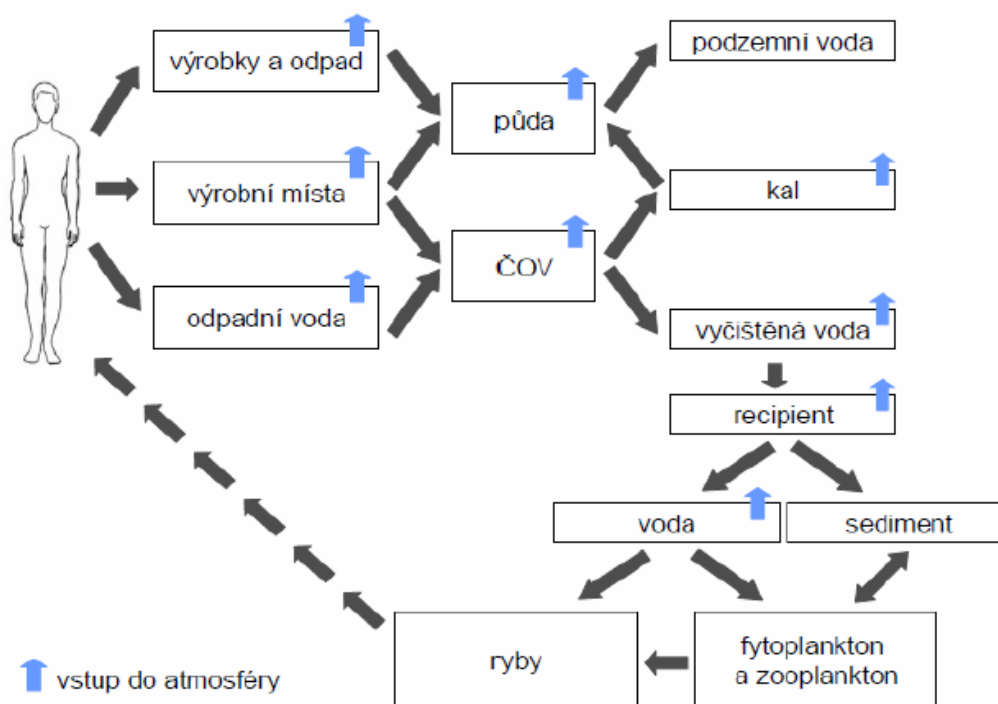
Musk sloučeniny, které jsou obsaženy ve většině drogistických a kosmetických přípravků používaných člověkem (sprchové gely, šampóny, dezinfekce, čisticí prostředky, prací prostředky, atd.), se prioritně dostanou do odpadní vody, která odtéká do čistírny odpadních vod. Bylo již prokázáno, že při běžných čistírenských úpravách nedochází k jejich úplnému odstranění a malé množství těchto látek se dostává spolu s vypouštěnou vodou do recipientu.

Protože musk sloučeniny jsou semivolatilní, mohou se dostávat také do atmosféry. S tím souvisí i základní vlastnost těchto látek, tj. tlak nasycených par. Látky, které mají vyšší tenzi par než 1·10⁻⁷ mPa, se v prostředí nacházejí v plynné formě a mnohem snadněji se dostávají do atmosféry [47].

Do pedosféry se mohou musk sloučeniny dostat prostřednictvím čistírenských kalů, které se využívají pro zúrodnování zemědělských půd. Vzhledem k vysoké hodnotě rozdělovacího koeficientu K_{ow} dochází rovněž k jejich akumulaci v tukových tkáních živých organismů, zejména ryb. Hlavním zdrojem vstupu musk sloučenin do organismu člověka je kontakt

s pokožkou a dýchacím ústrojím. Doposud nebyl potvrzen rovněž vstup musk sloučenin do organismu člověka v důsledku konzumace kontaminovaných potravin.

Dalším velkým zdrojem kontaminace jsou výrobní závody, které s těmito látkami pracují a vypouštějí je do životního prostředí [47].



Obr. 15: Schéma distribuce musk sloučenin do jednotlivých složek životního prostředí [48]

2.3.7.1 Hydrosféra

V devadesátých letech 20. století byla v Německu provedena monitorizační studie zaměřená na přítomnost syntetických vonných látek ve vodním ekosystému. Na tuto studii navázali také odborníci z ČR, zejména při posuzování úrovně kontaminace Labe [50]. Tato studie kromě jiného rovněž potvrdila, že syntetické vonné látky patří mezi persistentní organické polutanty s velkou mírou bioakumulace.

Protože je již známo, že čistírny odpadních vod nejsou doposud schopny zcela odstranit tyto látky během svého čistícího procesu, jsou za primární zdroj kontaminace vodního ekosystému považovány odpadní vody z městských aglomerací. Pro nitromusk sloučeniny se eliminace pohybuje mezi 34 – 87 %, pro polycyklické musk sloučeniny mezi 60 – 87 % [28].

Průměrná koncentrace musk sloučenin v odpadní vodě, a to při vstupu do čistírny odpadních vod, se v České republice pohybuje okolo $650 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Na výstupu je podstatně nižší, okolo $40 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, což odpovídá přibližně 94% účinnosti čistírenské technologie [49].

Takto vyčištěná voda je následně přiváděna do recipientu, tj. do povrchových vodních toků. Největší koncentrace jsou převážně detekovány v povrchové vodě nebo v sedimentech pod městskými aglomeracemi. Koncentrace převážně klesá se vzdáleností od výpusti odpadní vody do recipientu. To je pravděpodobně způsobeno částečným naředěním vody, sorpcí na dnový a suspendovaný sediment nebo jejich degradací [51].

Také další komplexní studie prokázala, že hydrosféra je nejvíce exponovanou složkou životního prostředí syntetickými vonnými látkami [47].

2.3.7.2 Atmosféra

Protože syntetické vonné látky patří mezi semivolatilní organické sloučeniny, uvolňují se do atmosféry. Atmosféra však není významným zdrojem kontaminace. Jedná se spíše o kontaminaci lokální.

V rozsáhlé studii řešené v USA (Air Pollution Research Center, University of Kalifornia) bylo uvedeno, že syntetické vonné látky, které jsou přítomny v atmosféře, mohou podléhat radikálovým reakcím, zejména fotolýze. Doba jejich rozkladu pomocí těchto reakcí je různá, pro galaxolid a tonalid jsou prezentovány pouze hodiny, zatímco pro musk xylen a musk keton byla zjištěná doba rozkladu 12,5 dne [52].

Ačkoliv jejich koncentrace v atmosféře nejsou vysoké, mohou být tyto látky prostřednictvím deště strhávány na zemský povrch a zde způsobovat lokální problémy. V roce 2002 byla provedena studie, v rámci které se sledovalo 23 vzorků dešťové vody v severských zemích. V následujícím roce 2003 byla vypracována nová studie, kterou si vyžádala organizace Greenpeace. V obou publikovaných studiích bylo prokázáno, že koncentrace musk sloučenin v dešťových vodách jsou velmi nízké, méně než $20 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$. V důsledku toho lze říci, že atmosféra není závažným zdrojem kontaminace musk sloučeninami [28].

2.3.7.3 Pedosféra

Pedosféra jako složka životního prostředí může být kontaminovaná několika způsoby. Hlavním zdrojem kontaminace pedosféry jsou kaly z čistíren odpadních vod, které jsou využívány v zemědělství. Aplikace kalů je sledována a nakládání s nimi je ošetřeno vyhláškou č. 383/2001 Sb. „*O podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě*“. Tato vyhláška stanovuje limity pro kontaminanty v kalech, a to zejména pro těžké kovy, polychlorované bifenyly a některé patogenní mikroorganismy [53].

Ve studiích věnovaných analýze těchto kalů byly detekovány polycyklické musk sloučeniny v poměrně vysokých koncentracích, tj. $12 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [54].

Dalším možným způsobem znečištění jsou havárie, úniky při výrobě, skladování nebo transportu, případně nelegální skládky odpadu nebo špatně izolované skládky komunálního odpadu. Veškeré tyto příklady kontaminace mají spíše lokální charakter a představují jen minimální procento z celkového znečištění.

Posledním možným způsobem znečištění pedosféry jsou kontaminované vodní toky, protože jak již před čistírenskou odpadních vod, tak také po vypuštění do recipientu může docházet k průsakům do půdy [87].

2.3.8 Toxicita

Toxicita je schopnost látky poškozovat živý organismus a je závislá na fyzikálně-chemických vlastnostech této látky [55].

Toxicita je hodnocena buď jako akutní nebo chronická. Akutní toxicita je toxicita, ke které dochází při jednorázové expozici chemickou látkou. Naopak chronická toxicita je způsobena opakovaným působením chemické látky na organismus. Toxicita se dá rovněž charakterizovat podle místa vniku chemické látky do organismu; kde ji lze definovat jako toxicitu inhalační (vdechnutí), perorální (ústí), perkutánní (kůží), parenterální (mimostřevní) aj.

Musk sloučeniny vnikají do organismu člověka zejména kontaktem s kůží, vdechnutím nebo při konzumaci kontaminované potravy.

Pro vyhodnocování, měření a především pro porovnávání byl zaveden pojem smrtelná dávka, která se označuje zkratkou LD (lethal dose). Nejčastěji je určována LD₅₀, což je dávka, která je smrtelná pro 50 % testovaných jedinců.

V současnosti dosud nemáme dostatečné množství informací o toxicitě musk sloučenin. U nitromusk sloučenin již bylo prokázáno, že musk ambrette má neurotické a mutagenní účinky. Musk xylen je považován podle legislativy Evropské unie za karcinogen 3. kategorie, naopak u musk ketonu karcinogenita zjištěna nebyla.

Polycyklické musk sloučeniny jsou v porovnání s nitro musk sloučeninami méně toxické. Přesto však byl u tonalidu (AHTN) prokázán účinek na endokrinní disruptory, což znamená, že může zasahovat do hormonálních procesů, které v živých organismech probíhají. Kromě toho bylo rovněž prokázáno, že polycyklické musk sloučeniny mohou mít vliv na vznik karcinomu prsu a také je lze zařadit mezi imunosupresiva. Tato skupina látek se podílí na celkovém potlačení imunity [55].

Tabulka 16: Orální a dermální toxicita u sledovaných musk sloučenin [56 - 67]

Analyt	Orální toxicita LD ₅₀	Dermální toxicita LD ₅₀
Linalool	potkan 2790 mg·kg ⁻¹	králík 5610 mg·kg ⁻¹
2-cyklohexylethanol	potkan 940 mg·kg ⁻¹	králík 1220 mg·kg ⁻¹
Fresco menthe	potkan 2400 mg·kg ⁻¹	králík > 5000 mg·kg ⁻¹
Citronellol	potkan 3450 mg·kg ⁻¹	králík 2650 mg·kg ⁻¹
HSA	potkan 2300 mg·kg ⁻¹	králík > 5000 mg·kg ⁻¹
Isobornyl acetát	potkan >10000 mg·kg ⁻¹	králík >20000 mg·kg ⁻¹
Arocet	potkan 4600 mg·kg ⁻¹	králík > 5000 mg·kg ⁻¹
Aroflorone	potkan 4700 mg·kg ⁻¹	králík 4700 mg·kg ⁻¹
Allyl cyklohexyl propionát	potkan 585 mg·kg ⁻¹	neurčeno
Lilial	potkan 1390 mg·kg ⁻¹	králík > 5000 mg·kg ⁻¹
Isoamyl salicylát	potkan 3300 mg·kg ⁻¹	neurčeno
Hexylcinnamic aldehyd	potkan 3100 mg·kg ⁻¹	neurčeno

2.3.9 Degradace

Jak již bylo konstatováno, musk sloučeniny patří mezi persistentní organické polutanty. Persistence znamená především odolnost vůči rozkladu chemickému, biochemickému, fotochemickému a termickému.

Degradace je nejčastěji vyjadřována poločasem rozpadu látky ($t_{1/2}$). Ten je definován jako doba, za kterou se sníží koncentrace sledované látky na polovinu původní hodnoty, a to v dané složce prostředí [68]. Tato hodnota závisí jednak na fyzikálních a chemických vlastnostech dané látky a zároveň na okolních bioklimatických podmínkách, tj. např. intenzitě slunečního záření, složení mikrobiálních společenstev a na teplotě [68].

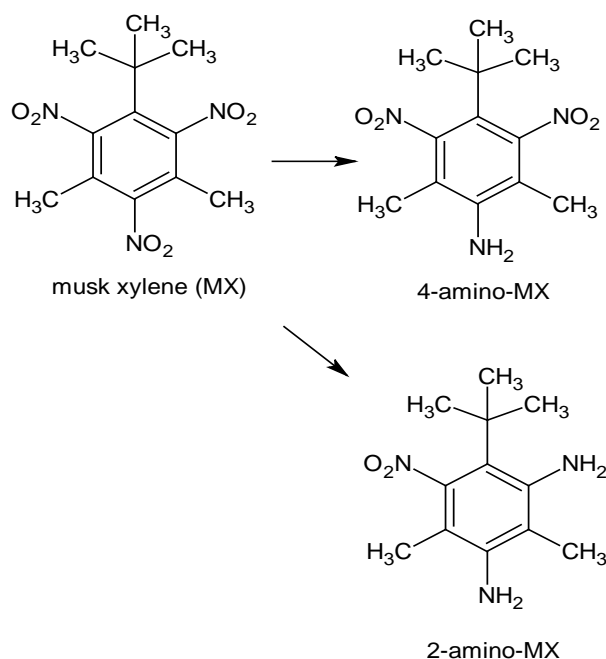
2.3.10 Metabolizace

Metabolizace je proces, při kterém dochází k částečné přeměně původní sloučeniny na jinou sloučeninu; vznikne tzv. metabolit, který může být více nebo méně toxický než původní sloučenina.

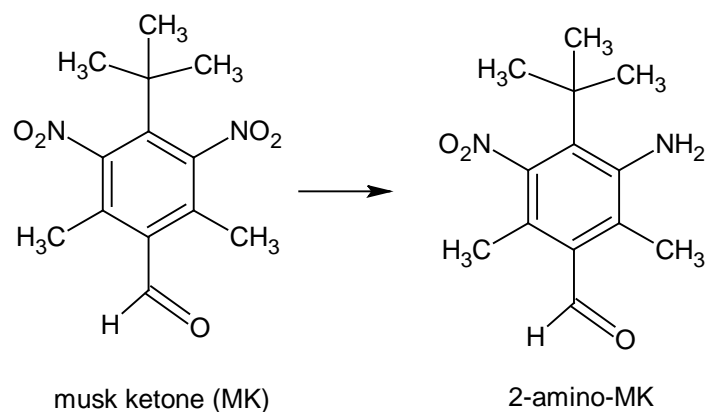
Během výzkumů prováděných ve spojitosti s musk sloučeninami bylo potvrzeno, že rovněž u musk sloučenin může docházet k jejich metabolizaci. V současné době existuje nejvíce informací o nitromusk sloučeninách, konkrétně o musk xylenu a musk ketonu. U polycyklických musk sloučenin byla zjištěna schopnost tvořit metabolity u galaxolidu (HHCB).

Jak můžeme vidět na Obr. 16 a Obr. 17, při metabolizaci nitromusk sloučenin dochází k redukci nitro- skupiny na amino- skupinu. Při metabolizaci musk xyleny vzniká především 4-amino-musk xylen (1-*tert*-butyl-3,5-dimethyl-4-amino-2,6-dinitrobenzen), méně často pak 2-amino-musk xylen (1-*tert*-butyl-3,5-dimethyl-2-amino-2,6-dinitrobenzen).

Ve výjimečných případech může vzniknout metabolit s amino- skupinou v obou polohách, tj. 2,4-diamino-musk xylen (1-*tert*-butyl-3,5-dimethyl-2,4-amino-2,6-dinitrobenzen). Při metabolizaci musk ketonu vzniká 2-amino musk keton (1-*tert*-butyl-3,5-dimethyl-2-amino-6-nitro-4-acetylbenzen) [69].

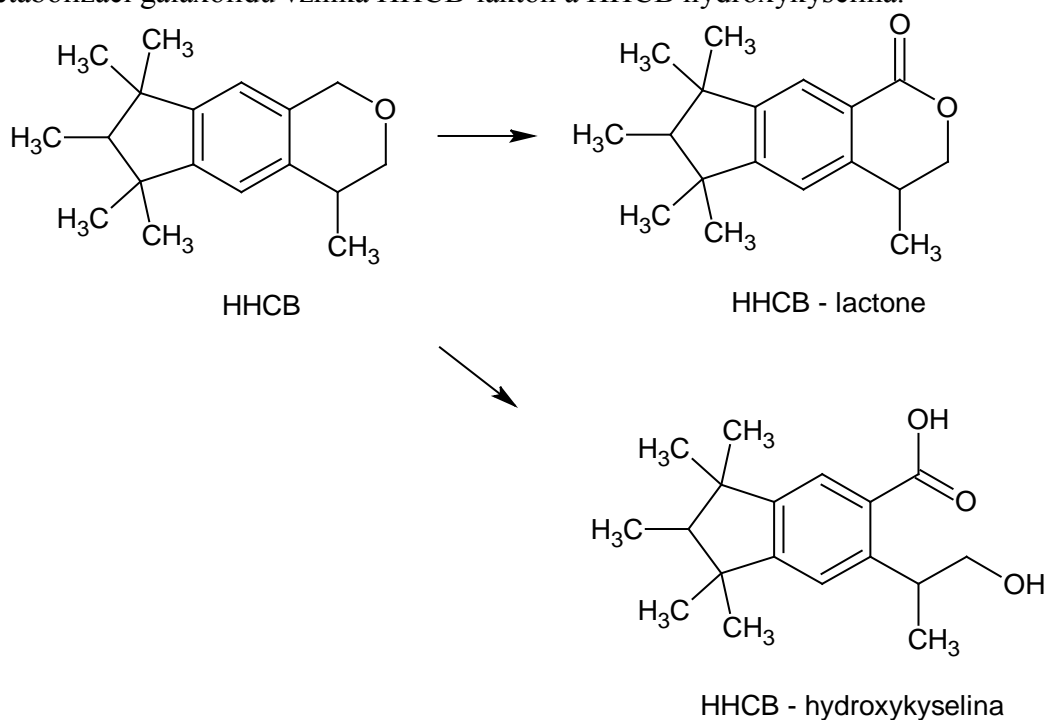


Obr. 16: Schéma metabolizace musk xyleny [69]



Obr. 17: Schéma metabolizace musk ketonu [69]

Při metabolizaci galaxolidu vzniká HHCB-lakton a HHCB hydroxykyselina.



Obr. 18: Schéma metabolizace galaxolidu (HHCB) [70]

2.3.11 Bioakumulace

Bioakumulace je proces, během kterého jsou chemické látky akumulovány organismy přímo z okolního média nebo prostřednictvím potravy, která je kontaminovaná těmito sloučeninami [68].

Pro zhodnocení míry bioakumulace se používají dva faktory [68]:

- biokoncentrační faktor (BCF) – poměr koncentrací chemické látky nalezených v biotě ku koncentraci v zevním prostředí, ve kterém daný organismus žije,
- bioakumulační faktor (BAF) – poměr koncentrací chemické látky v potravním řetězci ku koncentraci ve vnějším prostředí.

2.4 Čištění odpadních vod

Jak již bylo uvedeno v předchozí kapitole 2.3.7., největší znečištění musk sloučeninami lze prokázat ve vodním ekosystému, tj. konkrétně v odpadních vodách z čistíren odpadních vod.

V roce 2008 byla v Pekingu provedena studie, která se zabývala sledováním účinnosti eliminace musk sloučenin v čistírnách odpadních vod. Bylo vybráno sedm čistíren odpadních vod, ve kterých bylo odebráno 45 vzorků (17 vzorků odpadní vody na přítoku, 16 vzorků odpadní vody na odtoku a 12 vzorků kalů). Odběr proběhl v lednu, květnu a září a bylo sledováno sedm analytů, tj. tonalid, galaxolid, musk xylen, musk keton, celestolid, phantolid a traseolid. Nejčastěji a v nejvyšších koncentracích byl detekován galaxolid a tonalid. Účinnost čistícího procesu kolísala v jednotlivých ročních obdobích u galaxolidu, a to mezi 14,3 – 98 % a u tonalidu v rozmezí 18,5 – 98,7 % [71].

2.4.1 Mechanický stupeň

Mechanický stupeň tvoří primární technologický proces aplikovaný při čištění přitékající odpadní vody do čistírny odpadních vod (ČOV). Voda je sem přiváděna hlavní stokou ze stokové sítě.

V prvním kroku je zachyceno nejhrubší znečištění pomocí lapáků šterku, dřeva, dlažebních kostek, kusů cihel apod. Voda následně protéká česly, kde jsou zachycovány hrubé plovoucí nečistoty. Vzniklé shrabky z česel jsou hygienicky závadné, a proto se musejí spalovat nebo skládkovat.

Dalším krokem tohoto čištění je použití lapáku písku, který je často kombinován s lapákem tuku. Jejich cílem je oddělení minerálních suspenzí (písku) od organické fáze, a to na základě rozdílných hustot obou materiálů.

Posledním krokem mechanického stupně čištění jsou usazovací nádrže. Jemné nerozpuštěné látky jsou usazovány na dně nádrže a plovoucí látky jsou stírány z povrchu nádrže. V tomto kroku vzniká tzv. primární kal, který je následně zpracováván v kalovém hospodářství [72].

2.4.2 Biologický stupeň

Tento stupeň čištění využívá při odstraňování znečištění mikroorganismy, které vytvářejí tzv. aktivovaný kal. Ten dokáže z odpadní vody odstranit nejen až 99 % organického znečištění, ale také sloučeniny dusíku a fosforu.

Voda s aktivovaným kalem následně putuje do dosazovací nádrže, kde dochází k sedimentaci a k oddělení aktivovaného kalu od vyčištěné vody. Usazený aktivovaný kal je rozdělen na dvě části. Část aktivovaného kalu se vrací na začátek biologického stupně. Tento kal se nazývá vratný aktivovaný kal. Zbytek kalu, zvaný přebytečný aktivovaný kal, je odváděn do anaerobního stupně, kde probíhá stabilizace. Využívá se zde živin, které jsou v tomto kalu obsaženy pro anaerobní bakterie. Tyto bakterie produkují plyny, které se dají po vyčištění využít jako bioplyn, který se dá využít na ohřev nebo jako alternativní zdroj energie.

Čistá voda je kontrolována a vypouštěna zpět do recipientu. K základním kontrolovaným ukazatelům odpadní vody patří $CHSK_{Cr}$, BSK_5 , N_{celk} , P_{celk} , NL [72].

2.5 Stanovení musk sloučenin

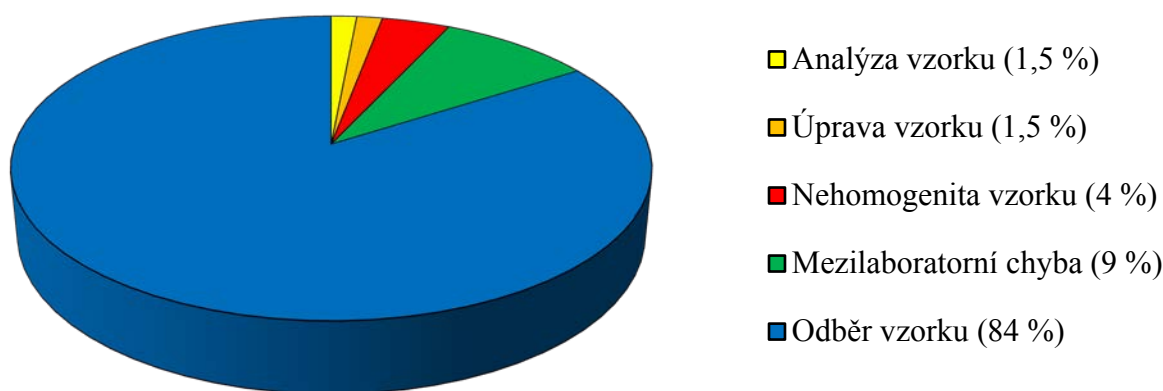
Musk sloučeniny jsou v současnosti detekovány téměř ve všech složkách životního prostředí. Vzhledem k tomu, že se tyto analyty vyskytují v životním prostředí pouze ve stopových nebo ultrastopových koncentracích, je tomu požadavku nutné přizpůsobit celý proces jejich analytického stanovení.

Součástí analýzy musk sloučenin jsou následující kroky [73, 74]:

- odběr vzorku,
- transport do laboratoře,
- uchování vzorku,
- izolace analytů z matrice,
- přečištění a zakoncentrování vzorku s analyty,
- vlastní analýza pomocí separačních metod.

Jednotlivé kroky mohou být významným zdrojem chyb a nejistot.

Celý postup zacházení se vzorky v rámci stopové analýzy organických polutantů je popsán pomocí normy ČSN EN ISO 5667-3.



Obr. 19: Příčiny nejistot analytických výsledků [74]

2.5.1 Opatření proti kontaminaci z vnějšího prostředí

Během celého procesu manipulace se vzorky i při jejich zpracování je nutné myslet na to, aby nedošlo k sekundární kontaminaci vzorku. Proto by se analytik, který se vzorky manipuluje, měl vyvarovat zejména používání čisticích i jiných přípravků, které by mohly musk sloučeniny obsahovat. Kromě již zmíněných čisticích prostředků sem patří především parfémy, mýdla a mělo by se rovněž myslet na aroma z čerstvě vypraného oblečení.

Dalším zdrojem sekundárního znečištění mohou být i laboratorní pomůcky a laboratorní sklo. Pro umývání těchto pomůcek nelze používat běžné čisticí prostředky. V první řadě obsahují musk sloučeniny, které mohou pomůcky a sklo kontaminovat. Dalším důvodem speciálního zacházení jsou velmi nízké koncentrace ve sledovaných vzorcích, a proto je nezbytné odstranit sebemenší znečištění, které by mohlo pocházet z předchozí analýzy [29, 73]. Přesný postup mytí laboratorního skla je podrobně popsán v kapitole 3.3.9.

2.5.2 Odběr vzorku

Odběr vzorku je prvním a stěžejním krokem celého analytického postupu. Je nutné mít na mysli to, že musíme odebrat reprezentativní vzorek, což znamená, že vzorek by měl odpovídat zastoupení analytů v příslušné lokalitě nebo odběrovém místě. Způsob odběru vzorků je přizpůsoben jeho skupenství a charakteru.

Kapalné vzorky se odebírají do skleněných, případně inertních plastových lahví. Protože musk sloučeniny jsou fotodegradabilní, je doporučeno je odebírat do skleněných vzorkovnic z tmavého skla. Odběr vody se provádí vždy na více místech sledované lokality; následně se vzorek smísí, zhomogenizuje a upraví se na požadovaný objem. Pro vlastní analýzu většinou stačí pouze 0,5 l vody, množství odebraného vzorku by se však mělo pohybovat v rozmezí od 1 litru (odpadní voda) až do 2 litrů (povrchová voda). Nádoby musí být naplněny až po okraj, aby bylo omezeno množství vzduchu, který by mohl způsobovat urychlený rozklad (oxidaci) analytů, popř. aby v důsledku semivolatilního charakteru těchto analytů nedocházelo k jejich úniku. Ihned po odběru je nutné odebraný vzorek umístit do temna a přepravovat ho v přenosné chladničce; teplota při převozu do laboratoře by neměla překročit 4 °C [29, 73].

2.5.3 Transport vzorku do laboratoře

Po odběru vzorku je nutné zajistit co nejrychlejší přepravu do laboratoře. Během transportu je nutné, aby byl vzorek v temnu, v chladu a aby těsnila víčka na vzorkovnicích.

Celý průběh transportu je nutné přizpůsobit povaze vzorků. Musk sloučeniny nesmí být vystaveny přílišnému slunečnímu záření, aby se předešlo možné fotodegradaci [29, 73].

2.5.4 Uchování vzorku

Po dopravení vzorku do laboratoře by měla být analýza započata v ideálním případě ihned. Pokud to není možné, je nutné dovezené vzorky skladovat. Vzorek se skladuje přímo ve vzorkovnicích, ve kterých byl dovezen, protože jakákoliv manipulací s ním by mohla vzorek kontaminovat. Vzorek se proto skladuje v lednici, archivní vzorky v mrazničce, při doporučených teplotách + 4 °C až – 20 °C [29, 73].

2.5.5 Izolace analytů z matrice

Pro izolaci analytů z matrice existuje mnoho extrakčních metod. Výběr vhodné extrakční metody závisí na jejich fyzikálních a chemických vlastnostech. Konkrétní metoda by měla být vybrána na základě vysoké výtěžnosti zjištěné při izolaci tohoto analytu z matrice, dále záleží také na jednoduchosti celého analytického postupu a v neposlední řadě na finanční náročnosti prováděné analýzy [29, 73].

2.5.5.1 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

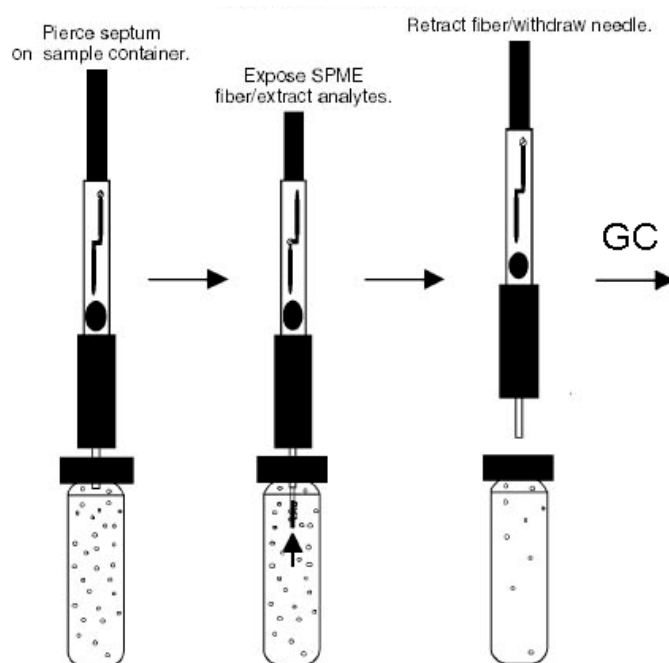
Mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Microextraction – SPME) je jednoduchá a účinná sorpčně-desorpční technika izolace a zakoncentrování analytu. Tato metoda nevyžaduje žádná rozpouštědla ani složité aparatury a je vhodná i pro velmi nízké koncentrace analytů.

Další její velkou výhodou je nízká cena, protože jedno vlákno může být použito až 100 x. Prezentovaná metoda má široké spektrum využití, rychlé a jednoduché provedení.

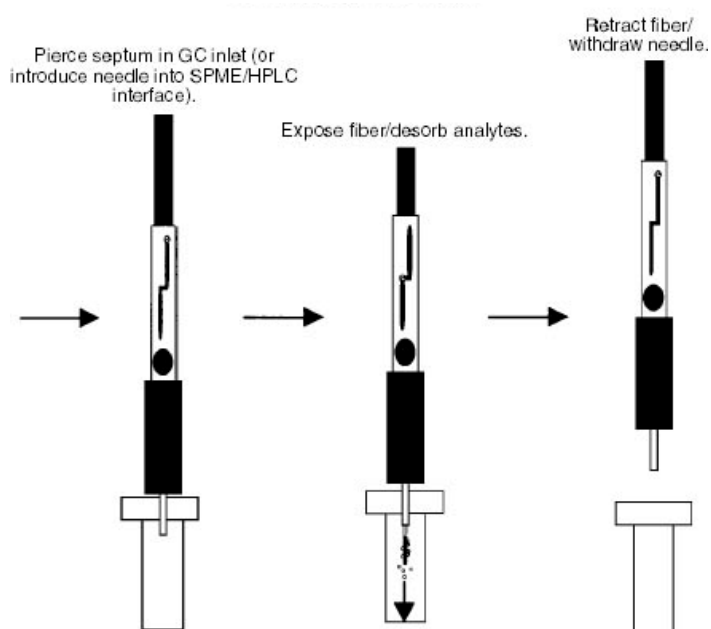
Při této technice nedochází k úplné extrakci, avšak k ustavení rovnováhy analytu mezi matricí vzorku a stacionární fází vlákna. Metoda je použitelná jak z kapalné fáze (přímé ponoření, direct immersion), tak také z plynné fáze (head-space). Poté, co je ukončena sorpce,

je vlákno vtaženo zpět do jehly, která slouží jako ochrana před mechanickým poškozením. Následný průběh desorpce analytů je závislý na zvolené separační metodě. Pokud použijeme plynovou chromatografii, jsou analyty z vlákna desorbovány působením tepla v nástřikovém prostoru plynového chromatografu, při kapalinové chromatografii jsou analyty desorbovány pomocí zvolené mobilní fáze.

Sorpce analytů na vlákno ze vzorkované matrice začíná v okamžiku, kdy je vlákno vytaženo z ochranné jehly a exponováno vložením do vialky se vzorkem. Extrakci lze považovat za ukončenou, jakmile je dosaženo rovnovážného stavu mezi matricí vzorku a vláknem. Rovnovážný stav SPME techniky závisí na koncentraci analytu ve vzorku a na typu a tloušťce sorpčního materiálu, který pokrývá křemenné vlákno [75].



Obr. 20: Sorpce analytu na SPME vlákno [75]



Obr. 21: Desorpce analytu ze SPME vlákna [75]

Optimalizace SPME

Pro to, abychom byli schopni generovat spolehlivé výsledky, je nutné dodržet některé podmínky, které analýzu ovlivňují. Jedná se o:

- vhodný výběr vlákna (typ a tloušťka stacionární fáze),
- podmínky sorpce (hodnota pH, teplota sorpce, čas sorpce, mód extrakce, míchání, vysolování) [75].

Volba stacionární fáze

Výběr vlákna s určitou stacionární fází závisí především na stanovovaném analytu, a to zejména na polaritě analytu. Nepolární analyty jsou lépe extrahovány vlákny s nepolárním povrchem a naopak. Zároveň lze docílit zvětšeného specifického povrchu přidávkem sorbentu do polymerní vrstvy. Tím se také zlepší sorpční schopnost [75].

Tloušťka vrstvy

Tloušťka sorpční vrstvy je dalším důležitým ukazatelem, na kterém závisí výtěžnost extrakčního procesu. Silnější vrstva je schopna extrahovat větší množství analytu než vrstva tenká.

Zároveň však také platí, že tlustší vrstva je vhodnější pro těkavé látky a slabší vrstva pro sorpci středně těkavých analytů. Tenká vrstva rovněž zajišťuje rychlou difuzi a uvolnění výše vroucích látek během desorpce [75].

Extrakční mód

Pro expozici vlákna je možné použít dvou metod:

- Direct immersion (přímé ponoření)
- Head-space

Při přímém ponoření je vlákno ponořeno přímo do vzorku. Tato metoda je vhodná pro látky, které nejsou příliš těkavé.

Při metodě head-space dochází k exponování vlákna v prostoru rovnovážné plynné fáze nad hladinou vzorku. Tato metoda je vhodnější pro těkavé látky. Zároveň je šetrnější pro samotné vlákno, které není poškozované a ovlivněné přímým ponořením do vzorku, například do odpadní vody [75].

Míchání vzorku

Míchání vzorku pozitivně ovlivňuje extrakci. Zkracuje ji a současně také zlepšuje účinnost extrakce. Vždy však je důležité dodržovat konstantní podmínky, tzn. zajistit pokaždé stejné podmínky míchání při celém procesu analýzy [75].

Hodnota pH a vysolování

Přidáním 25 – 30 hmotnostních % chloridu sodného do vzorku, případně také úpravou pH vzorku před extrakcí, se zvyšuje iontová síla roztoku a tím se snižuje rozpustnost analytů. Tím se zvýší účinnost extrakce pro řadu analytů; platí to hlavně pro polární a těkavé látky.

Naopak pro vysokomolekulární látky se zvýšení iontové síly nedoporučuje, protože dochází k interferenci píků.

Vhodnou kombinací vysolování a hodnoty pH lze dosáhnout zlepšení extrakce analytu z prostoru head-space [75].

Typy vláken a jejich vlastnosti

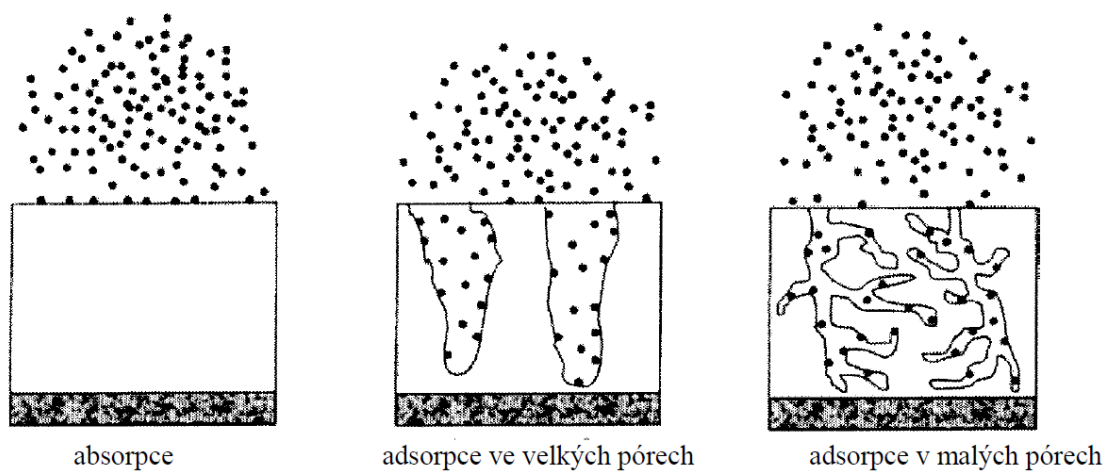
SPME vlákna byla poprvé uvedena na trh v roce 1993. Od té doby vznikla spousta aplikací a rovněž byly popsány výhody i nevýhody této metody. Doposud se nepovedlo vyrobit univerzální extrakční vrstvu nanesenou na křemenném vlákně.

V dnešní době na trhu existuje velké množství nejrůznějších typů vláken. Přehled dodávaných SPME vláken je uveden v Tabulce 17.

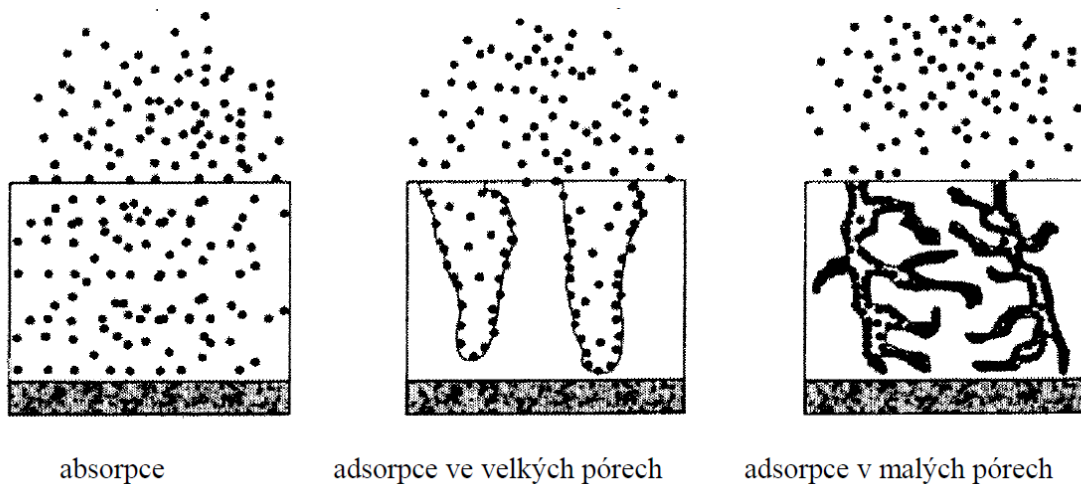
Tabulka 17: Přehled dodávaných SPME vláken [76]

Stacionární fáze	Zkratka stacionární fáze	Tloušťka vrstvy	Doporučeno pro analýzu
Polydimethylsiloxan	PDMS	100 μm 30 μm 7 μm	Těkavé látky nepolární (MW 60-275) Středně těkavé látky (MW 80-500) Slabě polární až nepolární (MW 125-600)
Polydimethylsiloxan/ divinylbenzen	PDMS/DVB	65 μm	Polární těkavé látky, obecné použití (MW 50-300)
Polyakrylát	PA	85 μm	Polární, středně těkavé látky (MW 800-300)
Carbowax TM / divinylbenzen	CW TM /DVB	65 μm 70 μm	Stopové koncentrace těkavých látek (MW 400-275)
Carboxen TM / polydimethylsiloxan	CAR TM /PDMS	85 μm 75 μm	Polární látky (MW 30-225)
Divinylbenzen/ Carboxen TM / polydimethylsiloxan	DVB/CAR TM / PDMS	50 μm 30 μm	Těkavé a středně těkavé látky C3-C20

Podle sorpčního mechanismu lze vlákna rozdělit na adsorbenty (porézní částice suspendované v polymeru) a absorbenty (homogenní čisté polymery). Na Obr. 22 a Obr. 23 je znázorněné schéma jednotlivých extrakčních mechanismů.



Obr. 22: Schéma extrakčních mechanismů – počátek sorpce [75]



Obr. 23: Schéma extrakčních mechanismů – rovnovážný stav [75]

2.5.6 Metody detekce, identifikace a kvantifikace

Optimální metodou pro stanovení musk sloučenin, jako semivolatilních látek, je plynová chromatografie. Vzhledem k velmi nízkým koncentracím, které se v reálných vzorcích vyskytují, je nutné použít i citlivý detektor. Vzhledem k tomu, že tento detektor rovněž umožní jednoznačnou identifikaci, doporučuje se použít hmotnostně spektrometrický detektor, který je schopen detekovat až jednotky pikogramů [29].

2.5.6.1 Plynová chromatografie (GC)

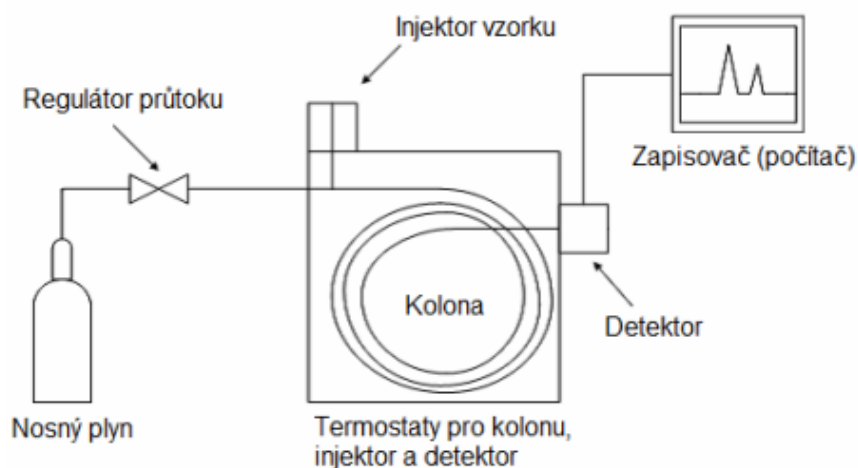
Plynová chromatografie patří do skupiny separačních analytických metod. Vyznačuje se jednoduchým provedením a vysokou účinností separace. Metoda je založená na rozdělování sloučenin mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze, tj. mezi fází mobilní a stacionární.

U plynové chromatografie je mobilní fází tzv. nosný plyn. Vzorek je dávkován do proudu tohoto nosného plynu, který ho unáší kolonou. Na vnitřní straně kapilární kolony je nanášena vrstva vhodné stacionární fáze. V koloně dochází následně k separaci látek na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Po separaci kolonu nejdříve opouštějí analyty, které minimálně interagují se stacionární fází v koloně. Čas od nástřiku vzorku po opuštění kolony je označován jako retenční čas. Analyty, které opouštějí kolonu, jsou detekovány prostřednictvím detektoru.

Souhrnným výstupem tohoto separačního děje je chromatogram, na kterém se v případě přítomnosti určitého analytu v extraktu z matrice objeví chromatografické píky, které jsou charakteristické retenčním časem (kvalitativní analýza) a plochou píku (kvantitativní analýza) [77, 79, 82].

Plynový chromatograf

Plynový chromatograf je přístrojové zařízení používané pro plynovou chromatografii. Jeho hlavní části jsou čistící zařízení, regulátor průtoku nosného plynu, nástřikový prostor, separační kolona, termostat a detektor. Plynový chromatograf je připojen na zdroj nosného plynu (tlaková láhev) a také k vyhodnocovacímu zařízení tvořenému počítačem s potřebnou databází. Schéma plynového chromatografu je znázorněné na Obr. 24 [77, 79, 82].



Obr. 24: Zjednodušené schéma plynového chromatografu [78]

Nosný plyn

Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev, která je připojena k plynovému chromatografu. Jeho úlohou, tj. jako mobilní fáze, je zajištění transportu analytů přes kolonu; zároveň s nimi nesmí interagovat.

Jako nosný plyn se nejčastěji používá helium, dusík, vodík nebo argon. Volba nosného plynu závisí na druhu použité kolony a detektoru. Dalším velmi důležitým kritériem je čistota nosného plynu (min. 99,99 %), jeho inertnost, cena, viskozita a bezpečnost při práci. Vodík má ze všech plynů nejnižší viskozitu, což má za následek zejména nejrychlejší průtok mobilní fáze a s tím související nejkratší čas analýzy. Na druhou stranu je však vodík velmi explozivní. Helium umožňuje špičkové rozlišení, není explozivní, takže je vesměs optimální volbou při GC [77, 79, 80].

Čistící zařízení

Čistící zařízení zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu. Za nečistotu je považován např. kyslík, který nevratně poškozuje stacionární fázi na koloně [77, 79].

Regulační systém

Regulační systém je elektronické zařízení, které slouží k ovládání průtoků a tlaku nosného plynu. Regulátor zajišťuje stálý a neměnný průtok nosného plynu kolonou a detektorem bez ohledu na typ nosného plynu, teplotu a rozměry kolony [77, 79].

Injektor – nástřik vzorku

Injektor slouží k zavádění vzorku do proudu nosného plynu. Pro nástřik je nezbytné, aby byl vzorek odpařen v co nejkratším čase. To je zajištěno pomocí lineru, který je součástí injektoru. V něm dochází díky vysoké teplotě k okamžitému zplynění kapalného vzorku.

Vzorek je dávkován stříkačkou, nejčastěji mikrostříkačkou Hamilton, přes pryžové septum. Nástřikové množství je většinou 1 μ l. Zavádění vzorku může být provedeno buď pomocí autosampleru nebo i ručně. V současnosti je pro stopovou analýzu preferován autosampler.

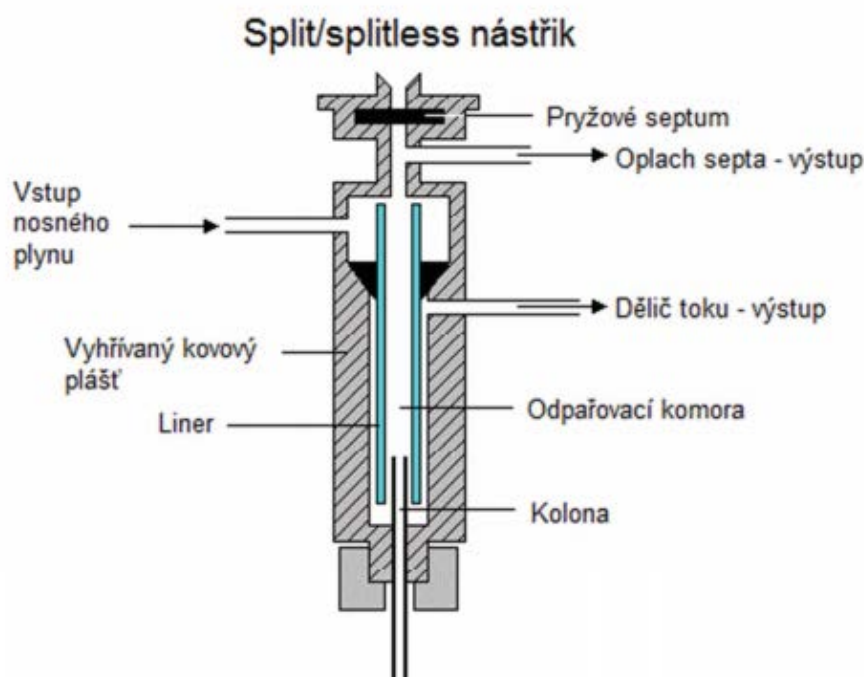
Rozeznáváme tři metody nástřiku vzorku na kolonu:

- přímý nástřik,
- nástřik bez děliče toku,
- nástřik s děličem toku.

Přímý nástřik se nejčastěji používá u náplňových kolon. Nástřikové množství je 1 – 10 μl . Vzorek musí být rychle nástřiknut a musí vytvořit film na stěně kolony, která je o 10 až 30 °C chladnější, než teplota varu příslušného rozpouštědla. Po 30 – 60 sekundách se teplota prudce zvýší, aby se vzorek rychle odpařil.

Mezi injektorem a kolonou je umístěn dělič toku, tzv. splitter, který se používá při nástřiku s děličem toku (split injection), kdy je na kolonu dávkována jen část odpařeného vzorku. Používá se u kolon, které mají menší kapacitu, případně také u koncentrovaných vzorků, kde se část analytu odstraní pomocí nosného plynu do odpadu.

Nástřik bez děliče toku (splitless injection) se nejčastěji používá pro ultrastopové analýzy nebo pro analýzu směsí látek, které mají velmi rozdílné body varu. Nástřikové množství je 0,5 – 5 μl [77, 79, 84].



Obr. 25: Schéma split/splitless injektoru [81].

Kolony

Kolona je jednou z nejdůležitějších součástí plynového chromatografu, protože právě zde dochází k separaci sledovaných analytů. Rozeznáváme dva typy kolon, náplňové a kapilární.

Náplňové kolony jsou trubice ze skla nebo nerezové oceli, které mají průměr 2 – 5 mm a délku v řádech metrů (0,6 – 10 m). Obsahují adsorbent nebo nosič se zakotvenou kapalnou fází. Jsou určeny pro větší dávkované objemy (až 100 μg v 1 – 10 μl rozpouštědla).

Kapilární kolony jsou až 100 x účinnější než kolony náplňové. Délka kolon se pohybuje v rozmezí 10 – 200 m a s vnitřním průměrem 0,1 – 0,6 mm. Vrstva stacionární fáze, která je nanášena na jejich vnitřní straně, má tloušťku 0,1 – 10 μm . Jsou vyrobeny z křemenného skla, které je potaženo polyimidovou vrstvičkou, která zajišťuje pevnost [79, 84].

Termostat

Díky termostatu je možné udržovat vzorek v plynném stavu. Pokud jsou separovány analyty s různou teplotou varu, je možné měnit teplotu v rozmezí 50 – 400 °C. S rostoucí teplotou narůstá tlak par příslušných složek a tak dochází k poklesu retenčních časů [85].

Detektor

Detektor slouží k detekci látek v nosném plynu. Detektor reaguje na přítomnost složky v nosném plynu a vyše měřitelný signál. Přítomnost dané složky je indikována měřením určité vlastnosti nosného plynu vycházejícího z kolony, která závisí na druhu a koncentraci složek.

Při výběru vhodného detektoru hraje velkou roli citlivost (nízké detekční limity), lineární odezva na obsah analytu a selektivita.

Podle děje, který probíhá při detekci, rozeznáváme dva typy detektorů, tj. destruktivní a nedestruktivní. U destruktivních detektorů nastanou u analyzovaných analytů nevratné změny. Naopak u nedestruktivních detektorů nenastávají při detekci chemické změny analytů [84, 85].

Nedestruktivní detektory:

- infračervený spektrometr,
- detektor elektronového záhytu (ECD),
- tepelně-vodivostní detektor (TCD),
- argonový a heliový detektor (ArD, HeD).

Destruktivní detektory:

- plamenově ionizační detektor (FID),
- plamenově ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID),
- hmotnostní spektrometr (MS).

Vyhodnocovací zařízení

V dnešní době je vyhodnocovacím zařízením vesměs počítač, který má nahráný příslušný řídicí a vyhodnocovací software. Ten zpracovává signál z detektoru odpovídající množství, a to v závislosti na čase; takto získáme chromatogram, který dále slouží k vyhodnocování, tj. k identifikaci a kvantifikaci [79].

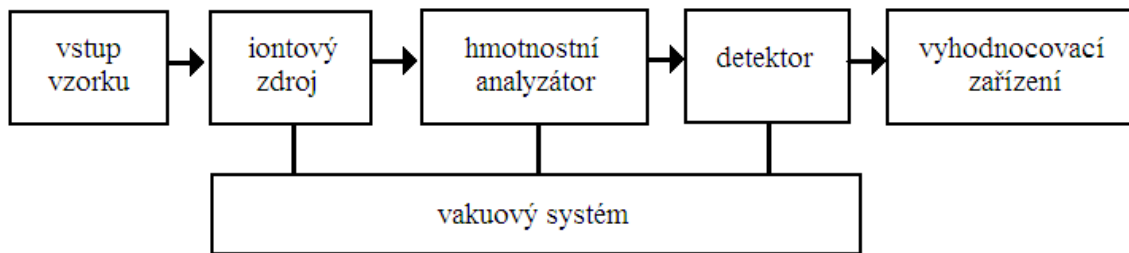
2.5.6.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně-chemická metoda, která slouží k převedení molekul na ionty, k rozlišení těchto iontů podle poměru hmotnosti a náboje (m/z) a k následnému záznamu intenzit jednotlivých iontů [79, 86].

Hmotnostní spektrometrie je velmi citlivá, destruktivní metoda, která je v dnešní době hojně využívána.

Hmotnostní spektrometr se skládá z několika částí [79, 86]:

- iontový zdroj,
- hmotnostní analyzátor,
- detektor,
- vyhodnocovací zařízení,
- vakuový systém.



Obr. 26: Schéma hmotnostního spektrometru [87].

Iontový zdroj

Iontový zdroj slouží k převádění neutrálních molekul analytu na ionty (nabité částice). Ionizační techniky se dělí podle dodávaného množství energie na měkké a tvrdé. Při měkkých ionizačních technikách je energie použitá při ionizaci malá, a proto není příliš pravděpodobná fragmentace vzniklého iontu. Naopak při použití tvrdých ionizačních technik získá molekula nadbytek energie, což se projeví fragmentací molekulového iontu na tzv. fragmentované ionty.

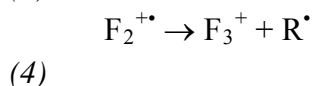
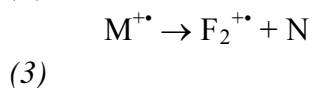
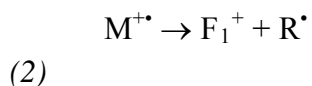
Při spojení plynové chromatografie s hmotnostní detekcí se nejčastěji využívá elektronová ionizace (EI), případně chemická ionizace (CI). Mezi další typy ionizace patří elektrosprej (ESI), termosprej (TSI), chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), fotoionizace za atmosférického tlaku APPI, ionizace polem (FI), ionizace urychlenými ionty (FIB) nebo atomy (FAB), ionizace laserem z matrice (MALDI) a indukčně vázané plasma (ICP) [88].

Elektronová ionizace (EI)

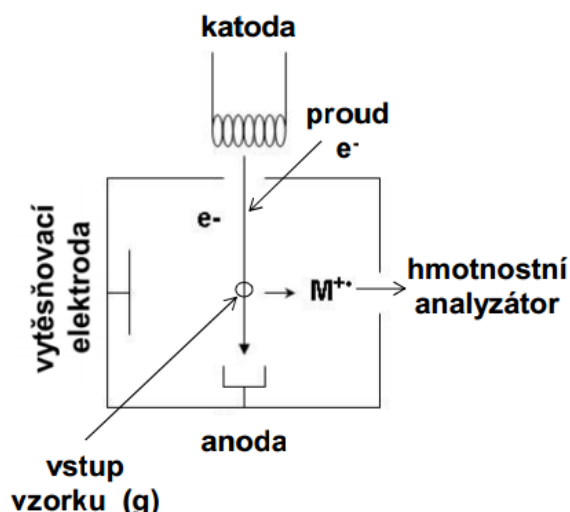
Jedná se o „nejtvrdší“ ionizační techniku. Žhavené W nebo Re vlákno (katoda) emituje elektrony, které jsou urychlovány na energii 70 eV. Tyto urychlené elektrony interagují s neutrálními molekulami analytu. Při interakci dochází k vytržení elektronu z elektronového obalu a ke vzniku radikál-iontu, podle rovnice:



Vzniklé elektrony jsou vytěšňovací elektrodou vypuzeny z iontového zdroje. Vzniklý svazek elektronů je následně zaostřen (fokusován) a urychlen dalšími elektrodami na 70 eV směrem k analyzátoru. Při srážce analyzované molekuly analytu s urychlenými ionty získá molekula velký přebytek vnitřní energie, který se projeví její fragmentací, tzn., že se molekula rozpadne na menší části. Schéma elektronové ionizace je znázorněna na Obr. 26.



Velkou výhodou tvrdých ionizačních technik je dobrá reprodukovatelnost, což umožňuje vytváření knihoven spekter. Knihovny spekter obsahují databázi nejfrekventovanějších spekter [88].



Obr. 27: Schéma principu elektronové ionizace [89]

Hmotnostní analyzátor

Hmotnostní analyzátor je umístěn mezi ionizačním zdrojem a detektorem. Slouží k separaci iontů podle poměru hmotnosti a náboje iontů (m/z). K separaci se využívá fyzikálních principů, jako je např. zakřivení dráhy letu iontů v magnetickém nebo elektrickém poli, různá stabilita oscilací iontů v dvoj- nebo troj rozměrné kombinaci stejnosměrného a vysokofrekvenčního střídavého napětí, rozdílná doba letu v oblasti bez pole nebo absorpce energie při cykloidálním pohybu iontů v kombinovaném magnetickém a elektrickém poli.

Nejčastěji používaným analyzátozem je kvadrupólový analyzátor (Q), analyzátor doby letu (TOF) a iontová past (IT). Další používané analyzátozy jsou např. iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací (FTICR), magnetický analyzátor (B) a elektrostatický analyzátor (E) [90].

Analyzátor doby letu (Time-of-Flight - TOF)

Jedná se o pulzní hmotnostní analyzátor. Ionty jsou nejdříve na vstupu do evakuované trubice velmi krátkým pulzem urychleny a následně je měřen přesný čas, za který ionty doletnou k detektoru. Podle doby doletu je následně určen poměr m/z .

Ionty jsou na vstupu do trubice urychleny stejnou kinetickou energií z elektrostatického pole, viz rovnice 5. Ionty s menší hodnotou m/z se pohybují v trubici rychleji, než ionty s vyšší hodnotou m/z . Schéma analyzátoru doby letu je znázorněno na Obr. 28. Doba dráhy letu iontu je dána rovnicí (6).

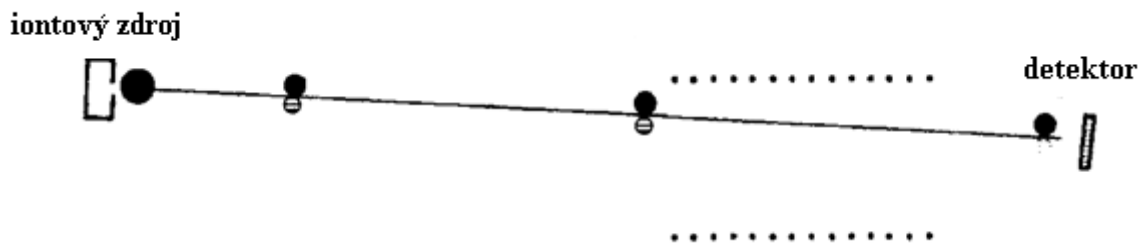
$$E_k = \frac{1}{2} m \cdot v^2, \quad (5)$$

kde m je hmotnost iontu a v je rychlost iontu.

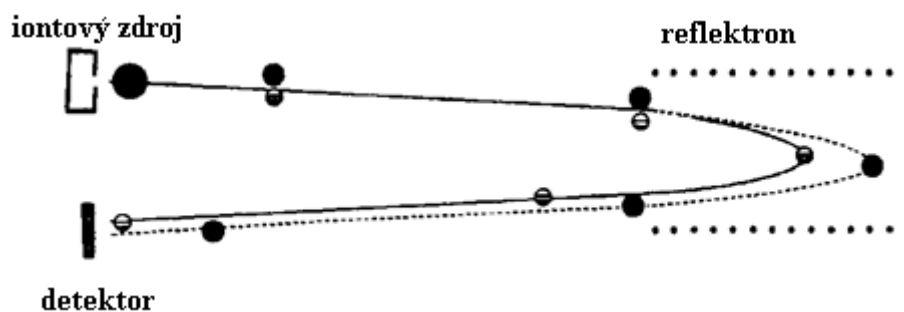
$$t = \frac{l}{v}, \quad (6)$$

kde l je délka analyzátorové trubice (dráha letu) a v je rychlost iontu.

Pro zvýšení rozlišení u TOF analyzátoru se používá tzv. iontové zrcadlo, neboli reflektron (rTOF). Reflektron slouží k vyrovnávání různých kinetických energií iontů, které mají stejnou hodnotu m/z . Ionty s větší kinetickou energií proniknou hlouběji do odrazového elektrického pole reflektronu před jejich odrazem, čímž dojde k jejich opoždění oproti iontům s nižší kinetickou energií; takto dojde k vyrovnání celkových drah iontů s různou kinetickou energií. Schéma analyzátoru doby letu s reflektronem je znázorněno na Obr. 29 [90].



Obr. 28: Schéma analyzátoru doby letu bez reflektronu [90]



Obr. 29: Schéma analyzátoru doby letu s reflektronem [90]

Detektor

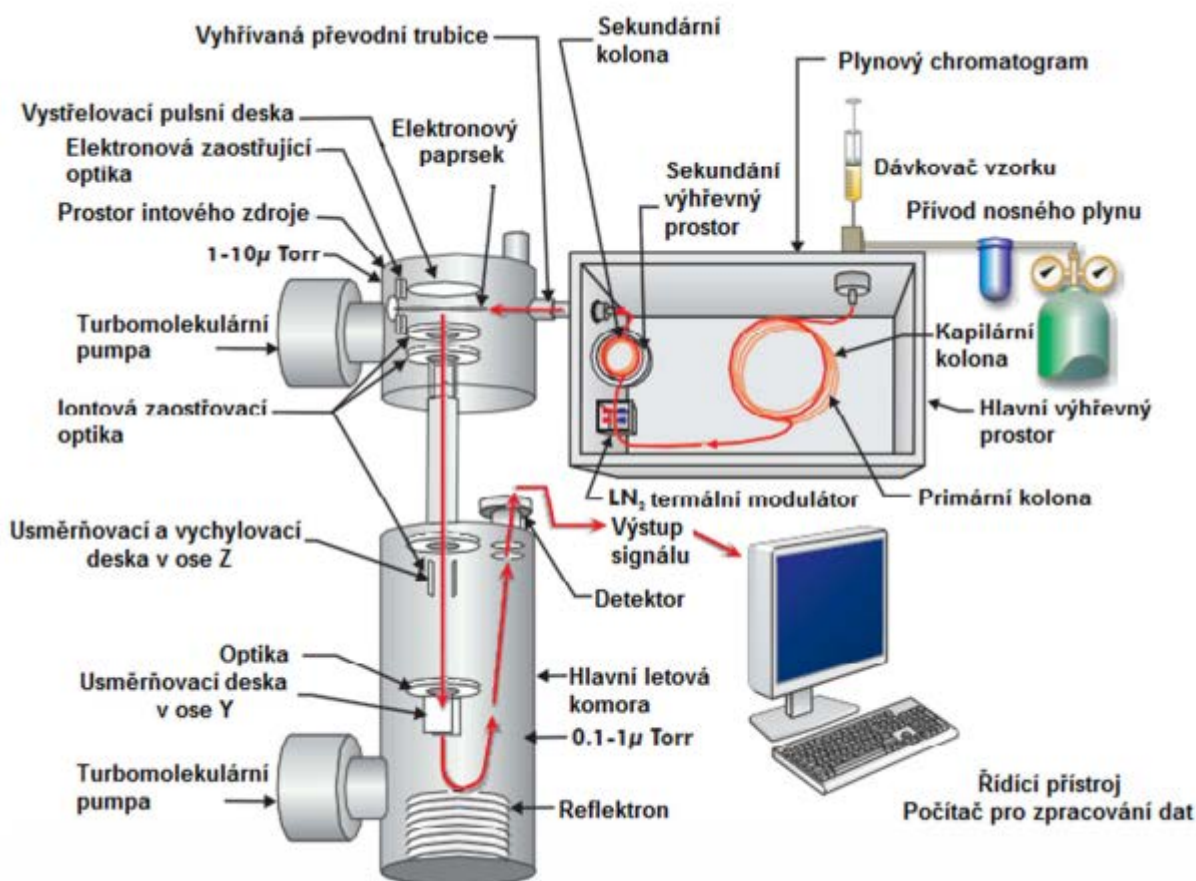
Detektor slouží k detekci iontů, které opouštějí analyzátor a následně je převádí na měřitelný signál. Nejčastěji používanými detektory jsou elektronový násobič, případně fotonásobič [91].

Vakuový systém

Vakuový systém slouží k udržení vysokého vakua v hmotnostním spektrometru a tím také k udržení dostatečně dlouhé střední dráhy letu tak, aby nedocházelo ke kolizním srážkám iontů v plynné fázi. K dosažení příslušného vakua jsou používány jednostupňové, dvoustupňové nebo třístupňové vakuové pumpy. Obvykle je využíván dvoustupňový vakuový systém. Na první stupeň se přednostně používají rotační olejové pumpy s rotujícími lamelami, které jsou schopné vytvořit vakuum $10^{-1} - 10^{-2}$ Pa. Pro druhý stupeň se používají obvykle turbomolekulární vývěvy, které jsou schopny vytvořit vakuum až 10^{-8} Pa. Alternativou je difúzní vývěva (10^{-6} Pa) [92].

Vyhodnocovací zařízení

Vyhodnocovací zařízení zpracovává signál z detektoru, zakresluje ho jako chromatografickou křivku (chromatogram) a potom provádí její vyhodnocení. Pro zpracovávání chromatografického záznamu a jeho vyhodnocování se používají speciální softwary, které jsou dodávány přímo s daným typem přístroje a jsou s ním i dodávány [79].



Obr. 30: Schéma přístroje Leco Pegasus 4D GCxGC-TOFMS [93]

2.5.6.3 Spojení GC x MS

Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií má velký význam pro analýzu především organických látek, protože lze s úspěchem kombinovat výhody obou technik. Je proto možné provést separaci analytů pomocí plynové chromatografie a následně detekované analyty identifikovat a kvantifikovat pomocí hmotnostní spektrometrie [92].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité přístroje, chemikálie, standardy

Přístroje a laboratorní zařízení:

- Míchačka IKA[®]RCT basic (Labicom, s.r.o., ČR)
- Analytické váhy SCALTEC SPB31(Scaltec Instrument GmbH, Německo)
- Zařízení pro přípravu Milli-Q vody Millipore QGARD
- Plynový chromatograf Agilent 6890 N (Agilent, USA)
- Hmotnostní spektrometr Pegasus IVD, (Leco, USA)
- Mikropipety (Biohit, Finland)

Mikroextrakce tuhou fází:

- Držák pro SPME
- SPME vlákno (modré): 65 µm PDMS/DVB (Supelco, USA)
- SPME vlákno (zelené): 7 µm PDMS (Supelco, USA)
- SPME vlákno (žluté): 30 µm PDMS (Supelco, USA)
- SPME vlákno (červené): 100 µm PDMS (Supelco, USA)
- SPME vlákno (černé): 75 µm Carboxen/PDMS (Supelco, USA)
- SPME vlákno (bílé): 85 µm PA (Supelco, USA)

Použité chemikálie:

- Helium 6,0 (Messer, ČR)
- Aceton pro plynovou chromatografii (Merck, Německo)
- NaCl p.a. (Lach-Ner, ČR)
- Aceton p.a. (Lach-Ner, ČR)
- Kyselina chromsírová
- NaOH
- Milli-Q voda

Standardy:

- Linalool [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- 2-cyklohexylethanol [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Citronellol [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Fresco menthe [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- HSA [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Isobornyl acetát [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Arocet [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Aroflorone [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Allyl cyklohexyl propionát [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Lilial [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Isoamyl salicylát [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)
- Hexylcinnamicaldehyd [100 %] (AROMA Praha, a.s., ČR)

3.2 Pracovní postup

3.2.1 Příprava roztoku pro optimalizaci SPME

Všechny použité standardy lineárních musk sloučenin jsou výrobky české společnosti AROMA a.s. Pro přípravu pracovních roztoků byly tyto látky považovány za 100%, a proto se při výpočtech vycházelo z tabelovaných hodnot hustoty těchto látek.

Před optimalizací bylo zapotřebí zjistit rozpustnost jednotlivých standardů v organických rozpouštědlech. Bylo prokázáno, že všechny sledované analyty jsou rozpustné v cyklohexanu, tzn. v nepolárním rozpouštědle; proto byly zásobní roztoky standardů připravovány v cyklohexanu. Od každého standardu bylo odebráno 10 μl , které byly přidány do 10 ml cyklohexanu. Odebráním 1 ml z každého zásobního roztoku standardů I byl vytvořen směsný zásobní roztok I.

Protože jsou v této práci lineární musk sloučeniny zjišťovány ve vodě, která je polární, byly i příslušné standardy přidávány do acetonu, který se bez problémů s vodou mísí.

Tabulka 18: *Koncentrace analytů v zásobním roztoku standardů I a ve směsném pracovním roztoku I*

Standard	Zásobní roztoky standardů I	Směsný pracovní roztok I
	Koncentrace složek ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	Koncentrace složek ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
Linalool	870	72,50
2-cyklohexylethanol	919	61,27
Fresco menthe	912	60,80
Citronellol	857	57,13
HSA	1001	66,73
Isobornyl acetát	983	65,53
Arocet	930	62,00
Aroflorone	893	59,53
Allyl cyklohexyl propionát	948	63,20
Lilial	946	63,07
Isoamyl salicylát	1050	70,00
Hexylcinnamic aldehyd	950	63,33

Pro přípravu směšného zásobního roztoku standardů II bylo odebráno 10 μl příslušného standardu, který byl potom přidán do 10 ml acetonu. Vzhledem k nižší odezvě linaloolu, HSA a také 2-cyklohexylethanolu, bylo do 10 ml acetonu přidáno 15 μl linaloolu a HSA a 20 μl 2-cyklohexylethanolu. Směšný pracovní roztok II byl připraven odebráním 1 ml z každého zásobního roztoku II.

Tabulka 19: *Koncentrace analytů v zásobním roztoku standardů II a ve směšném pracovním roztoku II*

Standard	Zásobní roztoky standardů II	Směšný pracovní roztok II
	Koncentrace složek ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	Koncentrace složek ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
Linalool	1305	108,75
2-cyklohexylethanol	1838	122,53
Fresco menthe	912	60,80
Citronellol	857	57,13
HSA	1502	100,10
Isobornyl acetát	983	65,53
Arocet	930	62,00
Aroflorone	893	59,53
Allyl cyklohexyl propionát	948	63,20
Lilial	946	63,07
Isoamyl salicylát	1050	70,00
Hexylcinnamic aldehyd	950	63,33

Odebráním 1,5 ml ze směšného pracovního roztoku II a přidáním do 10 ml acetonu byl vytvořen směšný pracovní roztok III.

Tabulka 20: *Koncentrace analytů ve směšném pracovním roztoku III*

Standard	Směšný pracovní roztok III
	Koncentrace složek ($\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$)
Linalool	1631
2-cyklohexylethanol	1838
Fresco menthe	912
Citronellol	857
HSA	1502
Isobornyl acetát	983
Arocet	930
Aroflorone	893
Allyl cyklohexyl propionát	948
Lilial	946
Isoamyl salicylát	1050
Hexylcinnamic aldehyd	950

3.2.2 Zjištění retenčních charakteristik a hmotnostních spekter analytů

Retenční charakteristiky a hmotnostní spektra jednotlivých analytů byly zjišťovány tak, že byly nejprve změřeny zásobní roztoky připravených standardů. Každý roztok standardu byl kapalným nástřikem nadávkován do plynového chromatografu. Ze získaného chromatogramu daného analytu byly odečteny retenční časy. Pro nastavení podmínek analýzy na plynovém chromatografu byly primárně nastaveny parametry, které byly již dříve optimalizovány při řešení diplomové a dizertační práce, rovněž zaměřených na stanovení musk sloučenin metodou GC/MS [28]:

Tabulka 21: Podmínky pro plynový chromatograf

Primární kolona:	SLB-5MS (30 m, 0,25 μm)
Sekundární kolona:	BPX-50 (1,29 m, 0,1 μm)
Nástřik:	1 μl
Nosný plyn:	He 6.0
Injektor:	Splitless
Teplota injektoru:	235 $^{\circ}\text{C}$
Průtok nosného plynu:	0,8 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$
Nastavení průtoku:	konstantní průtok
Teplota transfer line:	280 $^{\circ}\text{C}$

Tabulka 22: Podmínky pro hmotnostní spektrometr

Rozsah m/z:	30 – 450
Rychlost sběru dat:	20 spekter/s
Napětí na detektoru:	1850 V
Teplota iontového zdroje:	230 $^{\circ}\text{C}$

Tabulka 23: Základní teplotní program 1

Teplotní krok ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	Teplota ($^{\circ}\text{C}$)	Držení (min)
-	60	1
5	150	-
4	200	-
30	280	2

Pro vlastní analýzu bylo zapotřebí výchozí podmínky této metody optimalizovat.

3.2.3 Optimalizace teplotního programu

Pro optimalizaci teplotní rampy bylo ověřováno 5 teplotních ramp, ze kterých byla vybrána nejvhodnější pro separaci sledovaných analytů.

Výsledky této optimalizace jsou prezentovány v kapitole 4.1.

3.2.4 Optimalizace mikroextrakce tuhou fází (SPME)

3.2.4.1 Výchozí podmínky SPME

Pro optimalizaci SPME byly jako výchozí podmínky použity ty, které byly ověřeny v již obhájené diplomové práci [28], rovněž zaměřené na problematiku stanovení musk sloučenin v odpadních vodách pomocí SPME.

Tabulka 24: *Výchozí SPME podmínky*

Typ vlákna:	65 µm PDMS/DVB (modré)
Provedení:	head-space
Teplota sorpce:	80 °C
Doba ustálení rovnováhy:	5 min
Doba expozice vlákna:	30 min
Objem vialky:	22 ml
Objem vzorku:	14 ml
Rychlost míchání:	900 ot/min

3.2.4.2 Výběr vhodného vlákna a provedení

Výběr vhodného vlákna je pro vlastní analýzu SPME zásadní, a proto byl optimalizován také tento parametr. Optimalizace probíhala tak, že bylo testováno celkem šest vláken, které jsme měly k dispozici; tato vlákna měla různé stacionární fáze a různé tloušťky vrstev.

Tabulka 25: *Testovaná SPME vlákna*

	Stacionární fáze	Zkratka stacionární fáze	Tloušťka vrstvy
Modré	Polydimethylsiloxan/divinylbenzen	PDMS/DVB	65 µm
Červené	Polydimethylsiloxan	PDMS	100 µm
Žluté	Polydimethylsiloxan	PDMS	30 µm
Zelené	Polydimethylsiloxan	PDMS	7 µm
Černé	Carboxen/polydimethylsiloxan	Carboxen/PDMS	75 µm
Bílé	Polyakrylát	PA	85 µm

Pro každé vlákno byly ověřovány oba sorpční postupy, tj. metoda přímého ponoření vlákna do vzorku a metoda head-space, u které se sorpce uskutečňuje z prostoru nad hladinou vzorku.

Výsledky získané v rámci této optimalizace jsou porovnávány v kapitole 4.2.3.

3.2.4.3 Vliv vysolování

Z literatury je známo, že vyšší účinnosti tohoto typu extrakce lze dosáhnout zvýšením iontové síly roztoku; iontovou sílu roztoku můžeme upravit přidávkem soli.

Ke vzorkům bylo přidáváno 3,5 g NaCl, což odpovídalo 25 (hmotnostním) % vzorku.

V rámci této části optimalizace metody SPME bylo na podkladě získaných výsledků provedeno porovnání účinnosti extrakce bez a s přidávkem soli u všech 6 ověřovaných vláken. Výsledky jsou prezentovány v kapitole 4.2.4.

Tabulka 26: Podmínky při optimalizaci extrakčního módu vlivem vysolování

vlákno	Podmínky SPME
PDMS/DVB 65 μm	Provedení: head-space Doba temperace: 5 min Doba sorpce: 30 min Teplota sorpce: 70 $^{\circ}\text{C}$ Přídavek NaCl: 3,5 g
PDMS 100 μm	
PDMS 30 μm	
PDMS 7 μm	
Carboxen/PDMS 75 μm	
PA 85 μm	

3.2.4.4 Teplota sorpce

Na vlastní izolaci analytu pomocí metody SPME má rovněž vliv teplota sorpce. V rámci námi prováděné optimalizace byly porovnávány teploty 40, 60, 70, 80 a 90 $^{\circ}\text{C}$.

V tomto případě již byly aplikovány již ověřené parametry metody SPME; znamená to, že bylo použito vlákno, které bylo pro naše analýzy nejvhodnější, tj. vlákno 65 μm PDMS/DVB. Dále byla pro izolaci analytu použita metoda head-space a ke vzorku bylo pro zvýšení účinnosti přidáno 3,5 g NaCl.

Získané výsledky optimalizace, při kterých byl posuzován vliv teploty sorpce za již deklarovaných optimálních podmínek, jsou prezentovány v kapitole 4.2.5.

Tabulka 27: Podmínky při optimalizaci teploty sorpce

Teplota sorpce ($^{\circ}\text{C}$)	Podmínky SPME
40	Vlákno: PDMS/DVB 65 μm Provedení: head-space Doba temperace: 5 min Doba sorpce: 30 min Přídavek NaCl: 3,5 g
60	
70	
80	
90	

3.2.4.5 Čas sorpce

Poslední optimalizovaným parametrem byla doba, za kterou bylo dosaženo rovnováhy. Testovány byly časy 10, 20, 30, 40 a 50 minut.

Pro optimalizaci bylo i v tomto případě použito pro naši analýzu již ověřené optimální vlákno, tj. 65 μm PDMS/DVB; provedení bylo head-space, aplikován byl rovněž přídavek 3,5 g NaCl; sorpce byla prováděna při optimální teplotě 70 $^{\circ}\text{C}$.

Získané výsledky této části optimalizace jsou prezentovány v kapitole 4.2.6.

Tabulka 28: Podmínky při optimalizaci času sorpce

Čas sorpce (min)	Podmínky SPME
10	Vlákno: PDMS/DVB 65 μm Provedení: head-space Doba temperace: 5 min Teplota sorpce: 70 $^{\circ}\text{C}$ Přídavek NaCl: 3,5 g
20	
30	
40	
50	

3.2.5 Stanovení analytů v reálných vzorcích

Metoda SPME byla použita pro izolaci analytů z matrice, tj. z reálných vzorků odpadní vody. Bylo postupováno následovně: vzorek byl kvantitativně přenesen do vialky o objemu 42 ml, do které bylo vždy naváženo 3,5 g NaCl. Do takto připravené vialky bylo napipetováno 14 ml neředěného a nefiltrovaného vzorku odpadní vody. Následná extrakce probíhala podle optimalizované metody, která je uvedena v tabulce 29.

Tabulka 29: *Optimalizované SPME podmínky*

Vlákno:	PDMS/DVB 65 μ m
Provedení:	head-space
Objem vialky:	42 ml
Doba temperace:	5 min
Doba sorpce:	30 min
Teplota sorpce:	70 $^{\circ}$ C
Přídavek NaCl:	3,5 g
Rychlost otáčení:	550 ot/min

3.2.5.1 Identifikace a kvantifikace

Pro identifikaci a kvantifikaci sledovaných analytů byla použita metoda GC-MS. Identifikace analytu byla prováděna porovnáním retenčního času standardu a vzorku, jejich koncentrace byla stanovena z plochy píku. Kvantifikace sledovaných analytů byla založena na metodě standardního přídávku.

Výsledky jsou uvedeny v kapitole 4.5.

Metoda standardního přídávku

U metody standardního přídávku je nutné vždy provést dvě měření. Nejprve je proměřen samotný vzorek a následně je proměřen stejný vzorek se známým standardním přídávkem. Ze získaných ploch píků, a to bez přídávku a s přídávkem standardu, lze určit výslednou koncentraci analytu, která je obsažena v původním vzorku.

Pro stanovovanou koncentraci platí rovnice:

$$c = \frac{A_i \cdot c_s \cdot V_s}{[A_{isp} \cdot (V_i + V_s) - A_i \cdot V_i]}, \text{ kde} \quad (7)$$

c_i – neznámá koncentrace analytu ve vzorku ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)

A_i – plocha píku bez přídávku standardu,

c_s – koncentrace standardu ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$),

V_s – přidávaný objem standardu (ml),

A_{isp} – plocha píku s přídávkem standardu,

V_i – objem vzorku (ml).

Pro aplikaci metody standardního přídávku byl připraven směsný pracovní roztok III. Přesné koncentrace analytů obsažené v tomto roztoku jsou prezentovány v tabulce 20. Z tohoto roztoku bylo mikropipetou dávkováno do reálných vzorků 7 μ l. Pomocí pilotní studie bylo předem zjištěno, že tento přídavek poskytoval dostatečné zvýšení odezvy detektoru a proto nebylo nutné jeho objem zvyšovat.

3.2.6 Stanovení analytických parametrů – LOD a LOQ

Mez detekce (limit of detection - LOD) a mez stanovitelnosti (limit of quantification) spolu úzce souvisí a jsou velmi důležité analytické parametry, především pro stopovou analýzu organických polutantů.

Mez detekce udává nejmenší koncentraci analytu, která ještě vyvolá odezvu měřicího systému, která je rozpoznatelná od ostatních vlivů (šumu); znamená to, že LOD je koncentrace, kdy látka vyvolá odezvu měřicího přístroje větší než je trojnásobek šumu základní linie [94].

Mez stanovitelnosti udává koncentraci analytu, kterou lze s definovanou přesností kvantitativně stanovit a pro kterou byla metoda validována; LOQ je tedy koncentrace, kdy analyt vyvolá odezvu měřicího přístroje větší než je desetinásobek šumu základní linie [94].

Pro stanovení LOD a LOQ platí tyto rovnice:

$$LOD = \frac{3 \cdot h_n}{m}, \quad (8)$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot h_n}{m}, \text{ kde} \quad (9)$$

h_n – šum základní linie,

m – směrnice kalibrační křivky.

Pro zjištění LOD a LOQ bylo nutno sestrojít kalibrační křivky jednotlivých standardů, ze kterých byla určena potřebná směrnice. Vypočítané hodnoty LOD a LOQ jsou přehledně uvedeny v kapitole 4.3 v tabulce 40.

Příprava standardů pro sestrojení kalibračních křivek

Při výpočtu LOD a LOQ se vycházelo z kalibračních křivek, pro jejichž sestrojení byl naředěn směsný standard tak, aby příslušná kalibrační křivka byla 7 bodová. Pro přípravu byl použit směsný pracovní roztok II, který byl použit proto, že v reálných vzorcích se analyty také vyskytují ve směsích, a proto jeho použití více odpovídá skutečnosti.

Kalibrační křivky sledovaných analytů jsou přehledně uvedeny v tabulce 30. Pro přípravu a měření byly použity identické podmínky jako pro analýzu reálných vzorků, které jsou uvedeny v tabulce 24. Každé měření bylo opakováno 3x. Z průměrných hodnot ploch píků bylo provedeno vyhodnocení a kalibrační grafy byly sestrojeny pro každý standard zvlášť. Z těchto kalibračních grafů byly získány potřebné směrnice kalibračních křivek.

Kalibrační křivky jsou prezentovány v příloze 2 na grafech 24 – 35.

Tabulka 30: *Koncentrace standardů použité pro sestavení kalibračních křivek*

Standard	Koncentrace (ng·ml ⁻¹)						
Linalool	8,9	5,4	2,7	1,8	0,9	0,2	0,09
2-cyklohexylethanol	10,1	6,0	3,0	2,0	1,0	0,2	0,10
Fresco menthe	5,0	3,0	1,5	1,0	0,5	0,1	0,05
Citronellol	4,7	2,8	1,4	0,9	0,5	0,1	0,05
HSA	8,2	4,9	2,5	1,6	0,8	0,2	0,08
Isobornyl acetát	5,4	3,2	1,6	1,1	0,5	0,1	0,05
Arocet	5,1	3,1	1,5	1,0	0,5	0,1	0,05
Aroflorone	4,9	2,9	1,5	1,0	0,5	0,1	0,05
Allyl cyklohexyl propionát	5,2	3,1	1,6	1,0	0,5	0,1	0,05
Lilial	5,2	3,1	1,6	1,0	0,5	0,1	0,05
Isoamyl salicylát	5,8	3,5	1,7	1,2	0,6	0,1	0,06
Hexylcinnamic aldehyd	5,2	3,1	1,6	1,0	0,5	0,1	0,05

3.2.7 Nejistoty analytických výsledků

Nejistota analytických výsledků umožňuje vyjádřit míru spolehlivosti, protože v praxi neexistují žádná měření, která by byla absolutně pravdivá a přesná. V průběhu celého zpracování a identifikace vzorku se mohou vyskytnout nejrůznější vlivy, které se na této odchylce podílejí. Proto by měl být každý výsledek analytického měření doprovázen údajem, který tuto nejistotu představuje. Nejistota výsledků měření představuje interval, ve kterém se nachází s deklarovanou mírou pravděpodobnosti skutečný výsledek měření [95].

Chyby měření lze podle jejich působení rozdělit na chyby systematické, náhodné a hrubé. Systematické chyby jsou způsobovány stále stejnou příčinou, např. chybou dané metody, nebo chybou měřicího zařízení.

Náhodné chyby nemají známou příčinu a vznikají zcela nahodile. Na rozdíl od systematických chyb, kde se chyby projeví zvyšováním nebo snižováním naměřených hodnot, nemají nahodilé chyby žádnou pravidelnost a projevují se zcela nahodile.

Hrubé chyby vznikají např. poškozením přístroje nebo nepozorností. Tyto chyby se povětšinou od ostatních hodnot velmi liší a proto je nutné je z posuzovaných souborů vyloučit [96].

3.2.8 Opakovatelnost

Opakovatelnost metody je definovaná jako těsnost shody mezi navzájem nezávislými výsledky zkoušek získanými za podmínek opakovatelnosti (podmínky, kdy navzájem nezávislé výsledky zkoušek se získají opakovaným použitím stejné zkušební metody na identickém materiálu, ve stejné laboratoři, stejným pracovníkem za použití stejných přístrojů a zařízení, během krátkého časového rozmezí).

Pro vyhodnocení opakovatelnosti bylo provedeno měření pěti vzorků Milli-Q vody s přidavkem 1 ml směšného pracovního roztoku II a měření pěti reálných vzorků vody s přidavkem 1 ml směšného pracovního roztoku II. Ze získaných dat byla vypočtena opakovatelnost jako relativní směrodatná odchylka.

3.2.9 Vzorkování

Analyzované vzorky odpadních vod byly odebírány celkově ze tří čistíren odpadních vod (ČOV) v ČR lišících se použitou technologií a počtem ekvivalentních obyvatel (EO) produkujících tyto odpadní vody. Byly to velkokapacitní čistírna odpadních vod ČOV Brno - Modřice, ČOV Luhačovice a ČOV Hodonín. Všechny vzorky byly 24 hodinové slévané vzorky, odebírané jak na přítoku, tak také na odtoku z ČOV.

Vzorky byly odebírány do vzorkovnic z hnědého skla, které byly před odběrem důkladně umyté speciálním čistícím postupem, který je uvedený v kapitole 3.2.10. Vzorkovnice byly naplněny až po okraj a pevně uzavřeny. Ihned po převozu do laboratoře byly získané vzorky analyzovány. Mezi jednotlivými analýzami byly vzorky uchovávány v lednici při teplotě 4 °C. Pouze z ČOV Hodonín byly vzorky dovezeny v plastových barelech, ze kterých bylo potřebné množství dobře promíchané odpadní vody ihned přelito do vzorkovnic z tmavého skla o objemu 0,5 l a následně byly tyto vzorky odpadní vody uskladněny v lednici při 4 °C.

Z ČOV Brno - Modřice byly vzorky na přítoku a na odtoku z ČOV odebírány ve dnech 25. 3. 2014 a 3. 4. 2014. Poté, co v těchto dvou odběrech byly sledované analyty detekovány, byl dohodnut týdenní odběr slévaných vzorků v termínu od 6. do 10. 4. 2014. Z ČOV Luhačovice byly odebrány slévané vzorky na přítoku a na odtoku z ČOV dne 5. 4. 2014 a z ČOV Hodonín byly slévané vzorky odebrané na přítoku a na odtoku z ČOV 8. 4. 2014.

Spolu s těmito vzorky byla hodnocena také kontaminace povrchových vod při vypouštění odpadní vody do recipientu. Povrchové tekoucí vody byly odebrány z řeky Svratky, do které je vypouštěna odpadní voda z ČOV Brno - Modřice. Vzorky povrchové vody byly odebírány do vzorkovnic z tmavého skla, a to ve vzdálenosti 1 km před ČOV a 1 km za ČOV a dne 6. 4. 2014 okolo 15 hod rovněž přímo na výtoku vyčištěné odpadní vody do řeky Svratky.

3.2.9.1 Specifikace vzorků

ČOV Brno – Modřice

Čistírna odpadních vod v Brně - Modřicích je mechanicko-biologickou čistírnou odpadních vod s nitrifikačním a denitrifikačním stupněm a s odstraňováním fosforu simultánním srážením. Slouží převážně pro čištění odpadní vody z Brna a širokého okolí. Voda je do čistírny přiváděna systémem kanalizačních stok z města Brna a systémem soustavy čerpacích stanic z okolí Brna. V současnosti je na ČOV Brno - Modřice napojeno město Kuřim, Modřice, Želešice, Česká u Brna, Šlapanice, Šlapanice - Bedřichovice, Ostopovice, Moravské Knínice, Lipůvka, Ponětovice a Rozdrojovice [97].

Čistírna byla uvedena do provozu v roce 1961. S postupným rozvojem města Brna souvisejícím s přetěžováním čistírny a po připojení okolních měst a obcí byla čistírna v letech 2001 - 2004 rekonstruována a rozšířena. V současné době je maximální kapacita 630 000 EO [98].

Projektovaná kapacita je 137 000 m³ přitékající odpadní vody za den. Průměrné množství přitékající odpadní vody je přibližně 129 493 m³/den. Čistírna je proto využívána z 95 %. Přečištěná odpadní voda se vypouští do řeky Svratky s průměrným průtokem 1 950 l·s⁻¹ a maximálním průtokem 4 222 l·s⁻¹ [98].

ČOV Luhačovice

Město Luhačovice je lázeňským městem s 5 100 obyvateli. Město leží na říčce Šťávnice a nad městem je vybudována vodní nádrž Luhačovice. Čistírna odpadních vod v Luhačovicích je mechanicko-biologická čistírna odpadních vod, do které jsou přiváděny odpadní vody z Luhačovic a z blízké obce Pozlovice. V roce 2001 zde započala rekonstrukce a modernizace ČOV, při které se rekonstruovaly oba biologické stupně čištění, dále také homogenizační nádrže, chemické srážení fosforu a kompletace řídicího systému. Po této rekonstrukci byla navýšena kapacita ČOV na 16 200 EO a maximální průtok na 5 090 m³/den. To umožnilo připojení i dalších okolních obcí, kterými jsou Dolní Lhota, Horní Lhota, Slopné, Sehradice a Řetěchov, což představuje cca dalších 2 700 EO [99].

ČOV Hodonín

Vodárny a kanalizace Hodonín a.s., působí v okrese Hodonín a v částech okresu Břeclav, Vyškov a Kroměříž. Pitnou vodou zásobují 68 obcí a měst a odvod odpadní vody zajišťují pro 48 obcí a měst a provozují 24 čistíren odpadních vod. Pod tuto společnost spadají celkem 4 provozovny. Jedná se o 3 provozovny vodovodů a kanalizací (Veselí nad Moravou, Kyjov a Hodonín) a jeden provoz výroby vody (Moravská Nová Ves) [100].

Čistírna odpadních vod v Hodoníně je mechanicko-biologická čistírna odpadních vod s nitrifikačním, denitrifikačním a strojním odvodněním kalu. Projektovaná kapacita ČOV Hodonín je 75 000 EO s průměrným denním průtokem 11 000 m³/den. Přechištěná odpadní voda je vypouštěna do ramene řeky Moravy, tzv. Stará Morava – Salajka [101].

3.2.10 Čištění laboratorního skla

Jak již bylo uvedeno v předchozích kapitolách, vzhledem k velmi nízkým koncentracím látek, které jsou obsaženy v reálných vzorcích, je kladen velký důraz na čistotu používaného skla. Pro dokonalé vyčištění se nedají použít klasické mycí prostředky. Pro tyto účely byl proto navržen speciální postup, který musí být striktně dodržován.

Vialky a vzorkovnice je nejdříve nutné zbavit veškerých popisů a etiket. Následně jsou vloženy do nádoby s acetonem p.a. a na dobu 20 min jsou tyto nádoby se sklem umístěny do ultrazvukové lázně. Potom jsou z acetonu vyjmuty a ponechány na vzduchu při laboratorní teplotě tak dlouho, dokud zcela neuschnou. Následně jsou minimálně na 24 hod naloženy do kyseliny chromsírové. Po uplynutí požadované doby jsou důkladně opláchnuty v destilované vodě. Po usušení umytého skla je sklo přeneseno do vypalovací pece, kde je ponecháno 2 hod při teplotě 400 °C. Doporučuje se také vypláchnutí používaným rozpouštědlem, není však nezbytné.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Optimalizace teplotního programu

Teplotní program má velký význam pro vlastní separaci, což by se mělo projevit oddělením píků na chromatogramu. V rámci optimalizace bylo ověřováno 5 teplotních programů. V následujících tabulkách jsou uvedeny jejich charakteristiky.

Tabulka 31: *Základní teplotní program 1*

Teplotní krok (°C/min)	Teplota (°C)	Držení (min)
-	100	2,5
50	220	0
5	260	0
20	280	5
Celková doba analýzy:		18,90 min

Tabulka 32: *Teplotní program 2*

Teplotní krok (°C/min)	Teplota (°C)	Držení (min)
-	100	1
5	150	0
4	200	0
30	300	0
Celková doba analýzy:		26,83 min

Tabulka 33: *Teplotní program 3*

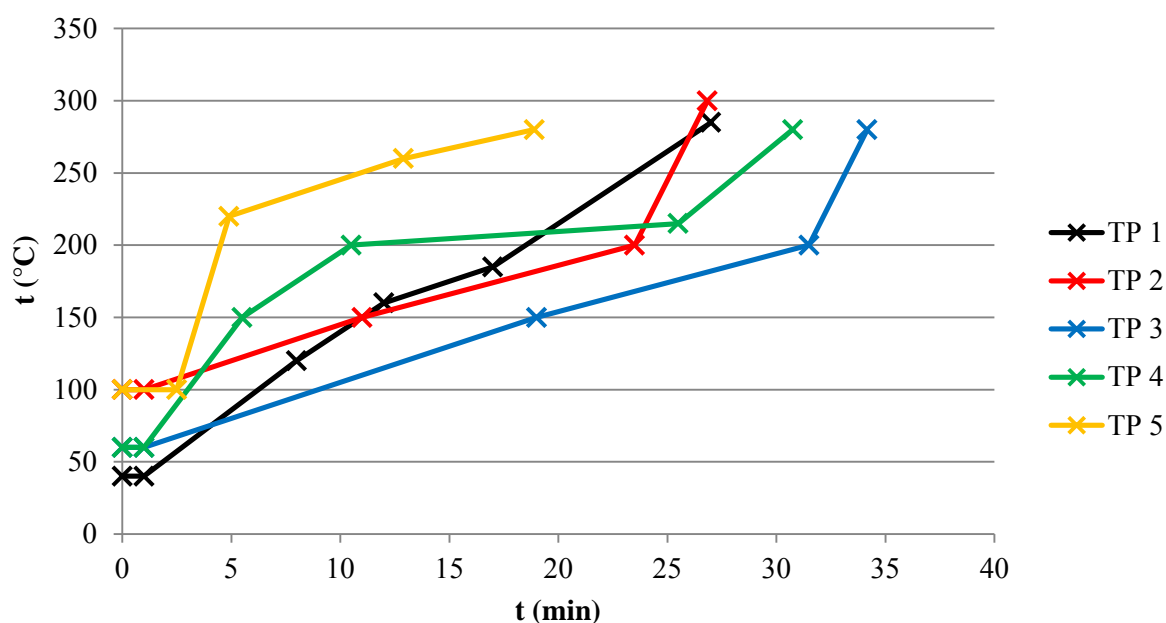
Teplotní krok (°C/min)	Teplota (°C)	Držení (min)
-	60	1
5	150	0
4	200	0
30	280	0
Celková doba analýzy:		34,17 min

Tabulka 34: Teplotní program 4

Teplotní krok (°C/min)	Teplota (°C)	Držení (min)
-	60	1
20	150	0
10	200	0
1	215	0
20	280	2
Celková doba analýzy:		30,75 min

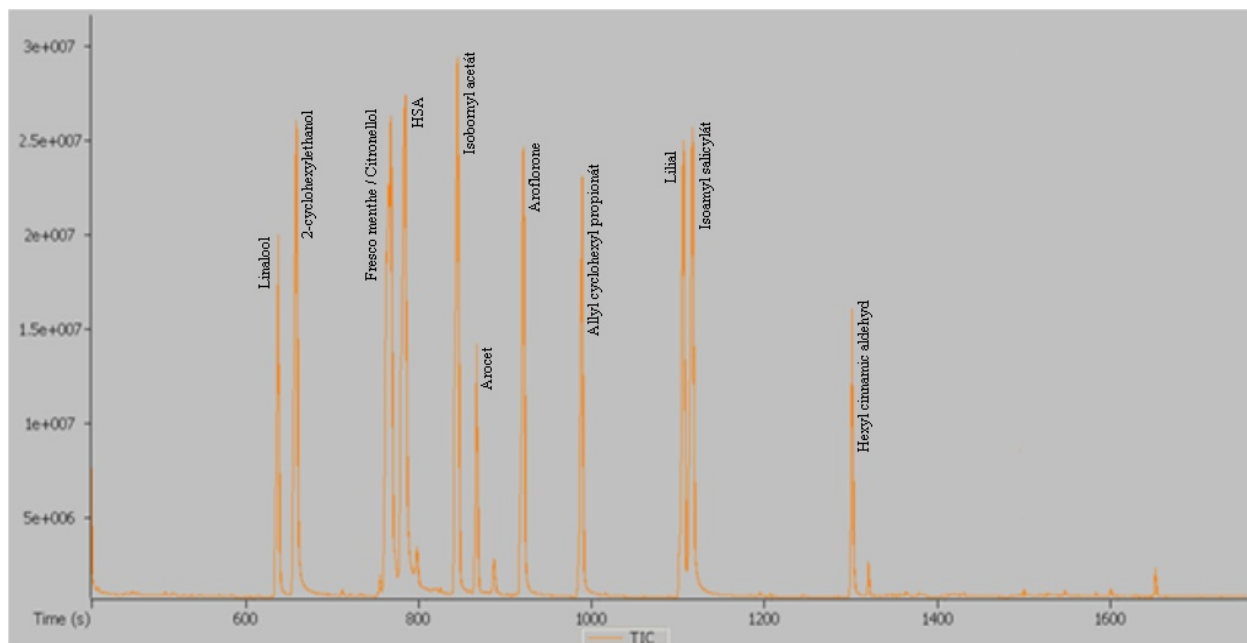
Tabulka 35: Teplotní program 5

Teplotní krok (°C/min)	Teplota (°C)	Držení (min)
-	40	1
20	120	3
10	160	0
5	185	0
10	285	0
Celková doba analýzy:		27,00 min

**Graf 1: Graf závislosti teploty na čase u jednotlivých teplotních programů**

Pokud provedeme porovnání teplotních ramp všech 5 teplotních programů lze konstatovat, že jako nejvhodnější byl zvolen teplotní program 5. Na chromatogramu, kde bylo použito tohoto teplotního programu, měly píky jednotlivých standardů pěkný tvar a byly dobře rozseparována, a to až na píky standardu fresco menthe a citronellolu, kde došlo pouze k částečnému rozdělení.

Chromatogram teplotního programu 5 je uveden na Obr. 31 a z něho odečtené retenční časy jsou prezentovány v tabulce 36.



Obr. 31: Chromatogram směšného standardu při kapalném nástřiku a teplotním programem 5

Tabulka 36: Charakteristiky jednotlivých standardů

Analyt	Retenční čas (min)	Kvantifikační iont (m/z)	Konfirmační ionty (m/z)
Linalool	634,625	93	71, 121, 43, 55
2-cyklohexylethanol	659,825	81	110, 55, 67
Fresco menthe	757,675	98	125, 55, 83
Citronellol	765,825	69	123, 41, 55, 81
HSA	799,375	91	136, 65, 77, 117
Isobornylacetát	836,075	136	121, 43, 95
Arocet	835,375 865,625	82	57, 123, 43, 67
Aroflorone	913,675	98	71, 168, 43, 55
Allyl cyklohexyl propionát	981,275	55	167, 41, 95
Lilial	1097,68	189	147, 204, 41, 131
Isoamyl salicylát	1119,74	120	138, 208, 65, 92
Hexylcinnamic aldehyd	1294,47 1316,33	91	216, 115, 129, 41

4.2 Optimalizace SPME

4.2.1 Aktivace vláken

Před zahájením optimalizace SPME bylo zapotřebí provést aktivaci všech používaných vláken, protože se jednalo o nová vlákna, která nebyla doposud použita. Postup aktivace je velmi jednoduchý, spočívá v zasunutí vybraného vlákna v SPME držáku do dávkovacího zařízení plynového chromatografu. Ten byl vyhřátý na potřebnou teplotu. Zde bylo vlákno ponecháno potřebnou dobu při neměnných podmínkách. Přehled podmínek pro aktivaci všech vláken, která byla použita, je uveden v tabulce 37.

Tabulka 37: Přehled ověřovaných SPME vláken

Vlákno	Barva	Tloušťka	pH	Max. teplota (°C)	Doporučená pracovní teplota (°C)	Teplota aktivace (°C)	Doba aktivace (hod)
PDMS/DVB	Modré	65 µm	2-11	270	200-270	250	0,5
PDMS	Zelené	7 µm	2-11	340	220-320	320	1
PDMS	Žluté	30 µm	2-11	280	200-280	250	0,5
PDMS	Červené	100 µm	2-10	280	200-280	250	0,5
Carboxen/PDMS	Černé	75 µm	2-11	320	250-310	300	1
PA	Bílé	85 µm	2-11	320	220-300	280	1

4.2.2 Výběr vlákna

Výběr vlákna je pro metodu SPME zásadní. V rámci optimalizace bylo porovnáváno 6 SPME vláken s rozdílnými stacionárními fázemi a tloušťkami stacionární fáze.

Tabulka 38: Testovaná SPME vlákna

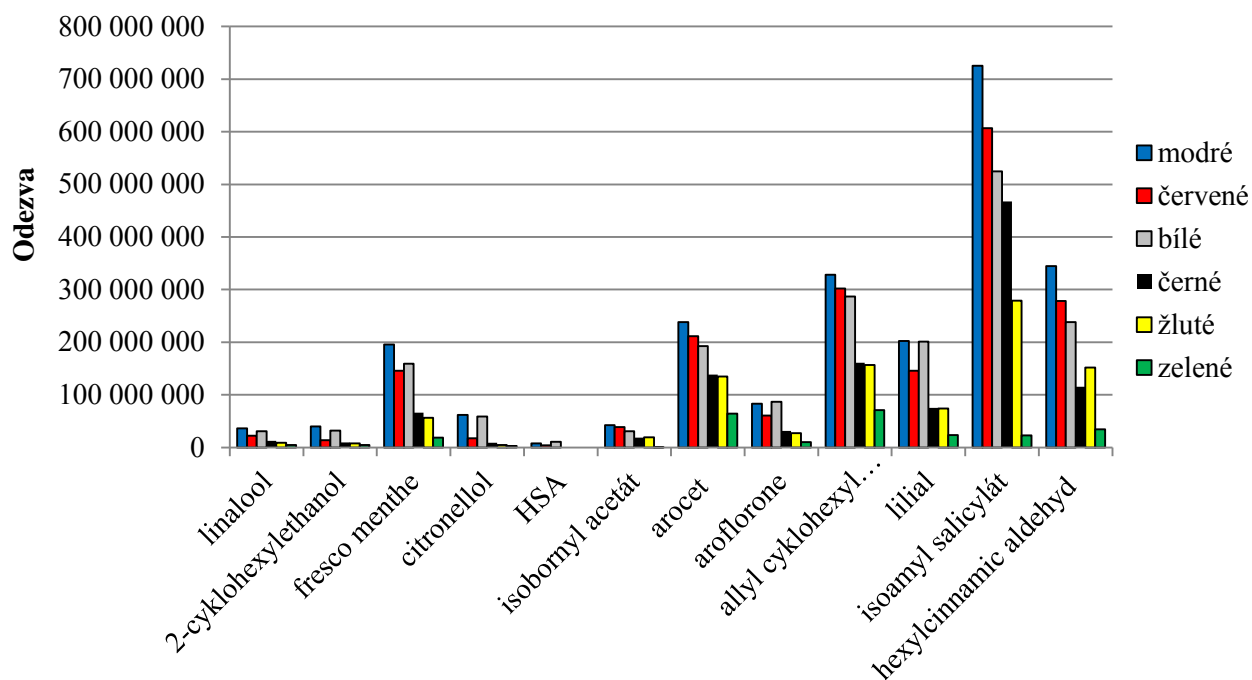
	Stacionární fáze	Zkratka stacionární fáze	Tloušťka vrstvy
Modré	Polydimethylsiloxan/divinylbenzen	PDMS/DVB	65 µm
Červené	Polydimethylsiloxan	PDMS	100 µm
Žluté	Polydimethylsiloxan	PDMS	30 µm
Zelené	Polydimethylsiloxan	PDMS	7 µm
Černé	Carboxen/polydimethylsiloxan	Carboxen/PDMS	75 µm
Bílé	Polyakrylát	PA	85 µm

Pro každé vlákno byla provedena extrakce head-space (HS) i přímé ponoření (PP). Výsledky jsou prezentovány v kapitole 4.2.3. Pro každé deklarované vlákno byl testován rovněž vliv vysolování. Výsledky jsou uvedeny v kapitole 4.2.4.

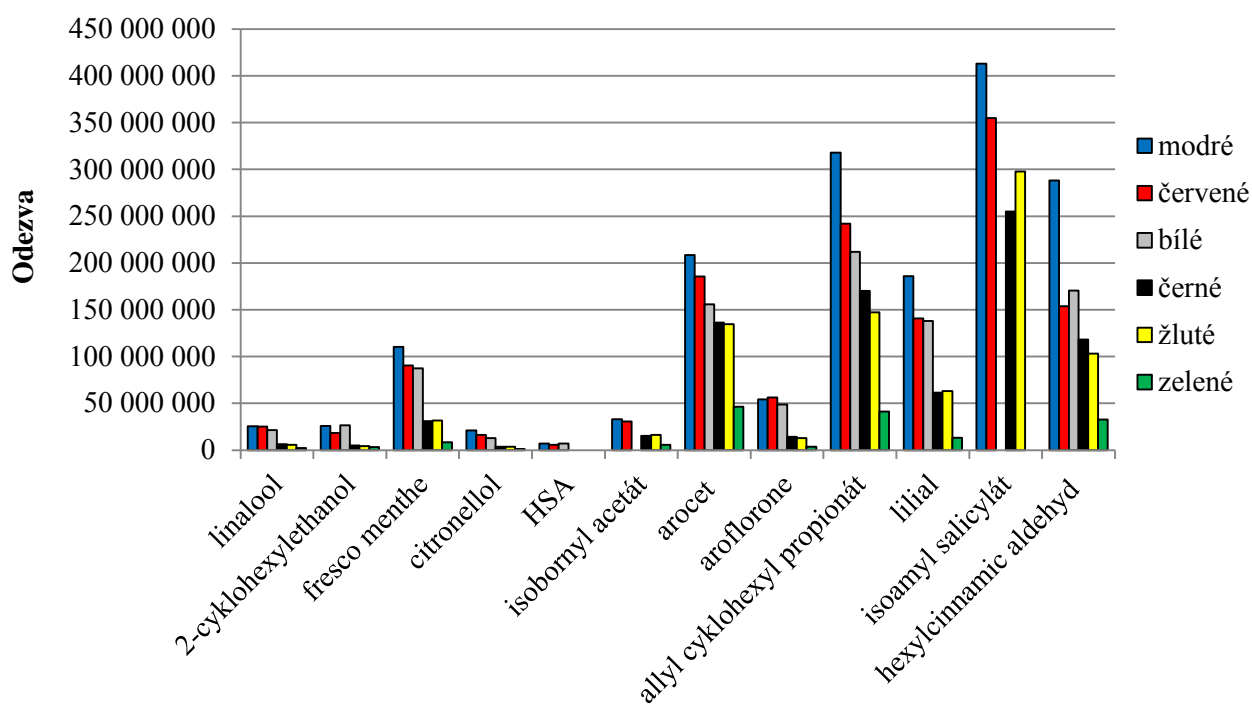
4.2.3 Typ extrakce

Jak již bylo uvedeno v kapitole 2.5.5.1, je možné pro izolaci analytu z matrice využít buď přímé ponoření vlákna (PP, direkt immersing), případně head-space (HS).

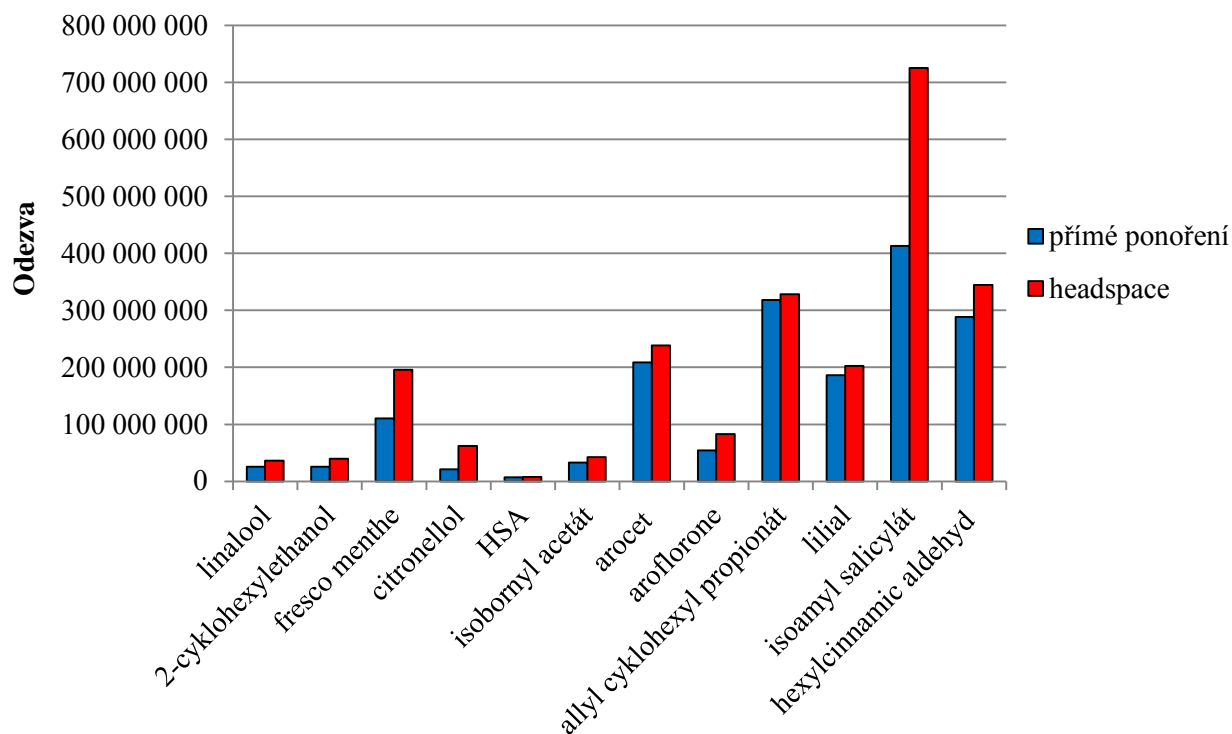
Měření a následný výběr byl prováděn proměřením všech analytů při obou typech sorpce. Výsledky měření jsou graficky znázorněny v grafech 2 a 3.



Graf 2: Porovnání head-space pro všechny typy vláken



Graf 3: Porovnání přímého ponoření pro všechny typy vláken



Graf 4: Porovnání head-space a přímého ponoření pro vybrané modré vlákno

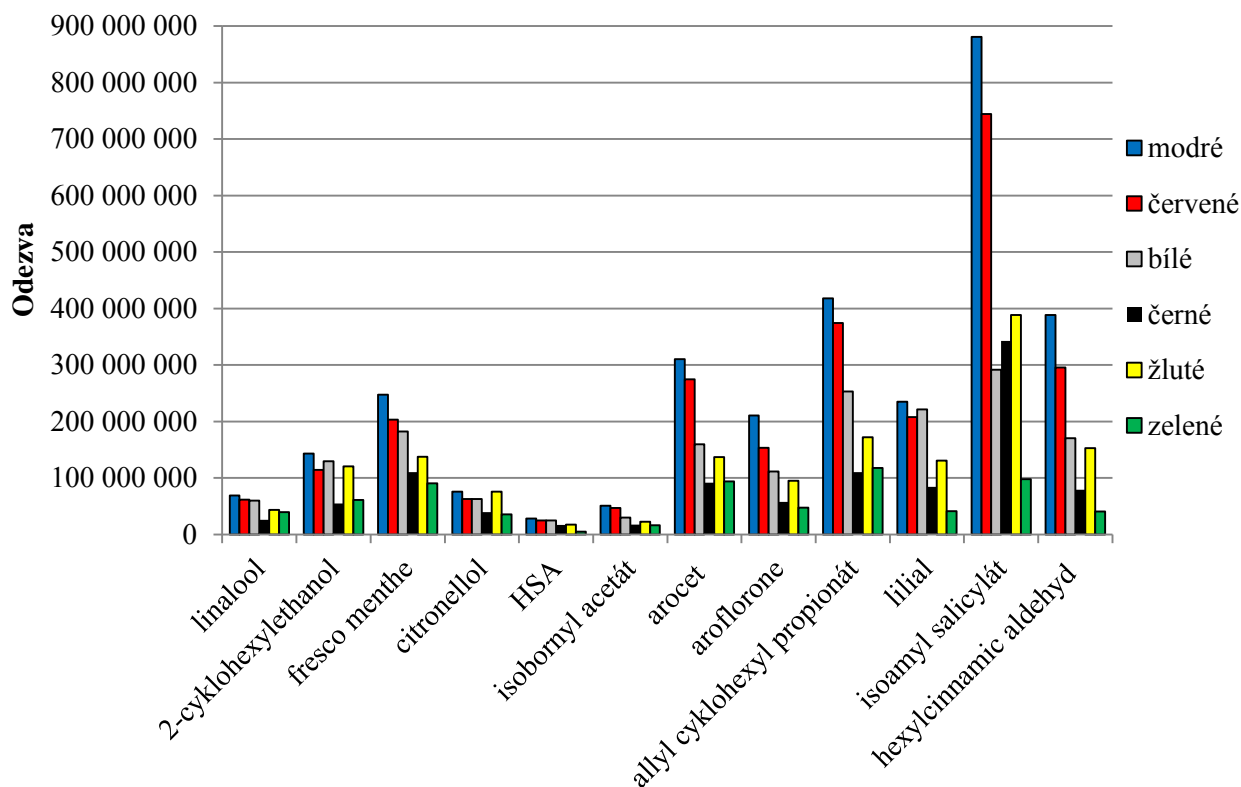
Jak vyplývá z výše uvedených grafů, nejlepších výsledků při head-space i při přímém ponoření bylo dosaženo v případě použití modrého vlákna PDMS/DVB 65 μm . Velmi dobrých výsledků však bylo dosaženo i s červeným vláknem PDMS 100 μm a bílým vláknem PA 85 μm .

Pomocí grafu 4 bylo provedeno porovnání obou typů sorpce pro vybrané modré vlákno, které jsme zvolily jako nejlepší. Z tohoto grafu dále vyplývá, že head-space umožňuje při velmi dobré výtěžnosti zjišťovat všechny sledované analyty.

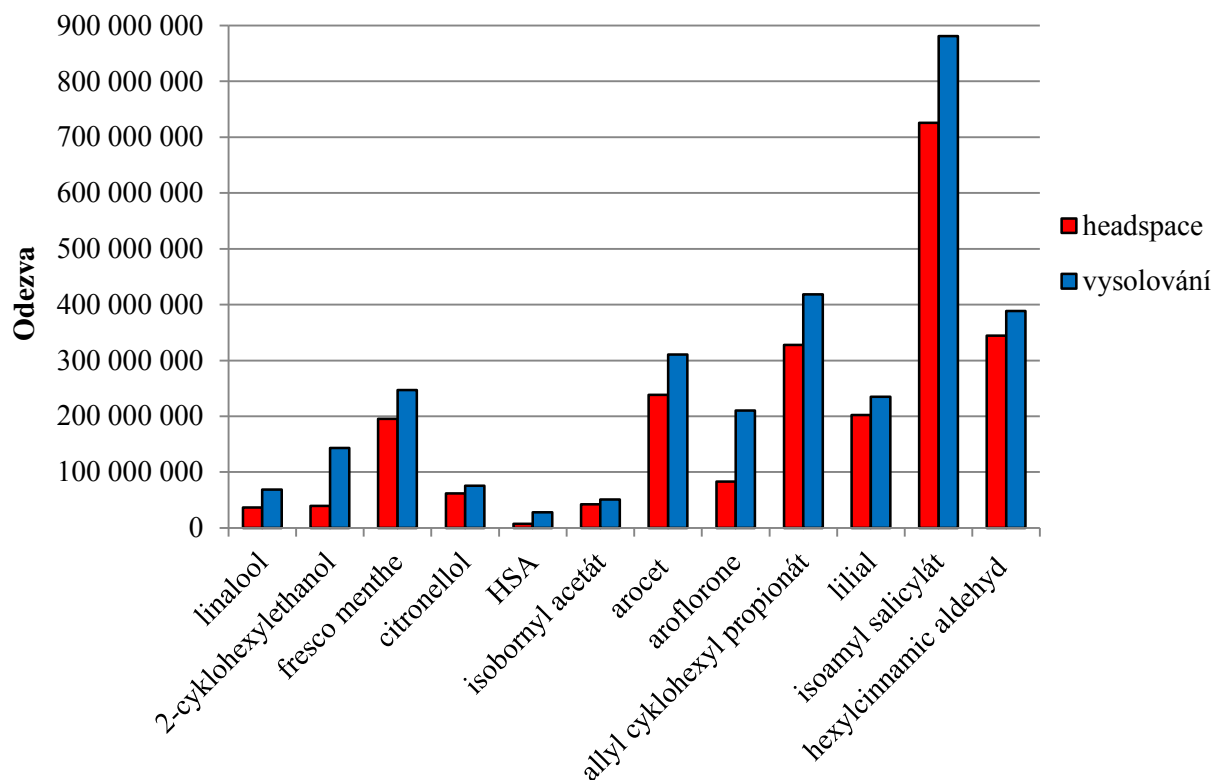
4.2.4 Vysolování

Jak bylo prezentováno v kapitole 2.5.5.1., zvýšení iontové síly roztoku může pozitivně přispívat ke zvýšení účinnosti (výťažnosti) extrakce analytů. Pro všechny typy vláken byla provedena extrakce head-space s přidavkem a bez přidavku NaCl. Potřebná předem stanovená navážka, která odpovídala 25 - 30 (hmotnostním) %, byla 3,5 g NaCl. Toto množství se bez problémů rozpouštělo ve 14 ml vzorku.

Výsledky měření jsou graficky znázorněny v grafu 5.



Graf 5: Porovnání vlivu vysolování pro všechny typy vláken



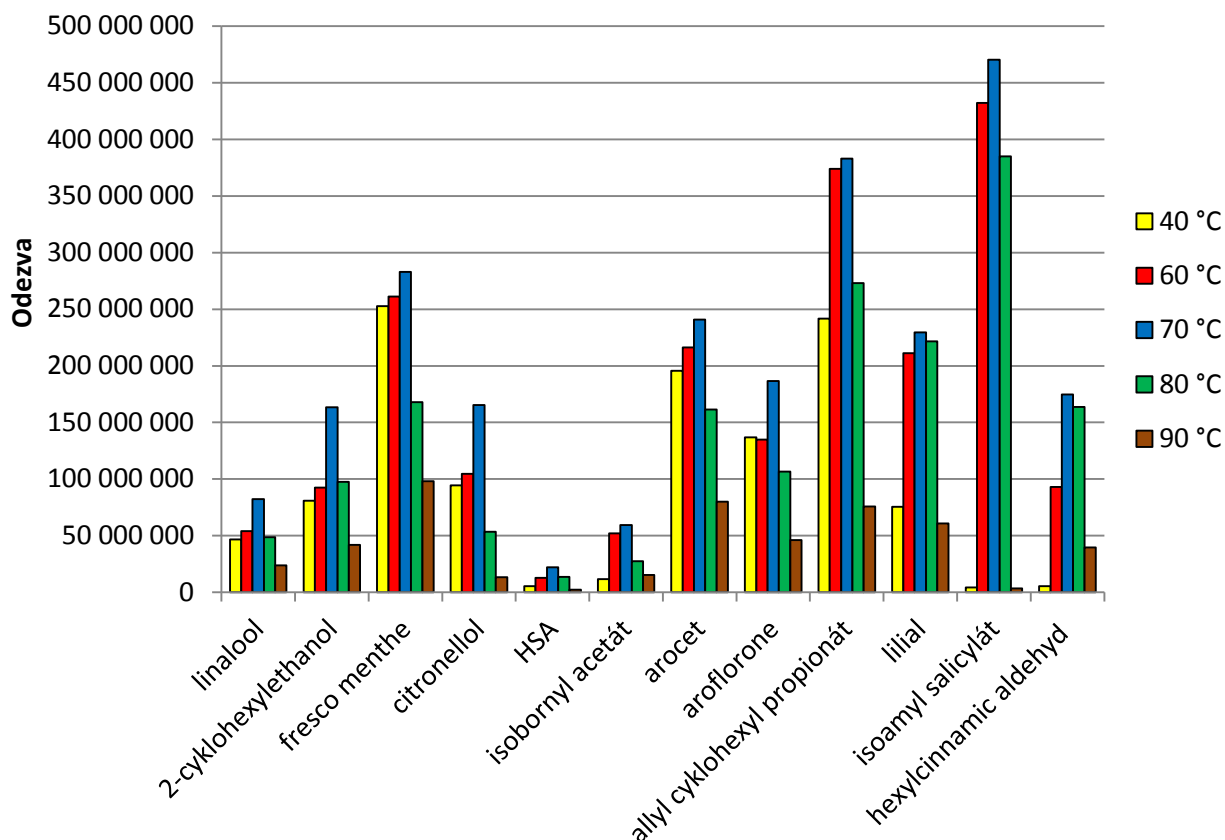
Graf 6: Porovnání extrakce head-space s přidavkem (VS) a bez přidavku (HS) NaCl pro modré vlákno

Jak vyplynulo z prezentovaného grafu 5, nejlepších výsledků bylo i v tomto případě dosaženo u modrého vlákna PDMS/DVB 65 μm . V grafu 6 je vidět porovnání head-space bez přidavku a s přidavkem NaCl. Jednoznačně bylo prokázáno, že vliv vysolování působí pozitivně na sorpci analytů.

4.2.5 Teplota sorpce

Pro stanovení nejvhodnější teploty sorpce analytů bylo prováděno měření při šesti různých teplotách, a to 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C a 90 °C. Pro optimalizaci teploty sorpce bylo použito modré vlákno a měřeno bylo pomocí head-space s přidavkem 3,5 g NaCl.

Výsledky měření jsou graficky znázorněny v grafu 7.



Graf 7: Graf závislosti odezvy sledovaných analytů na teplotě sorpce

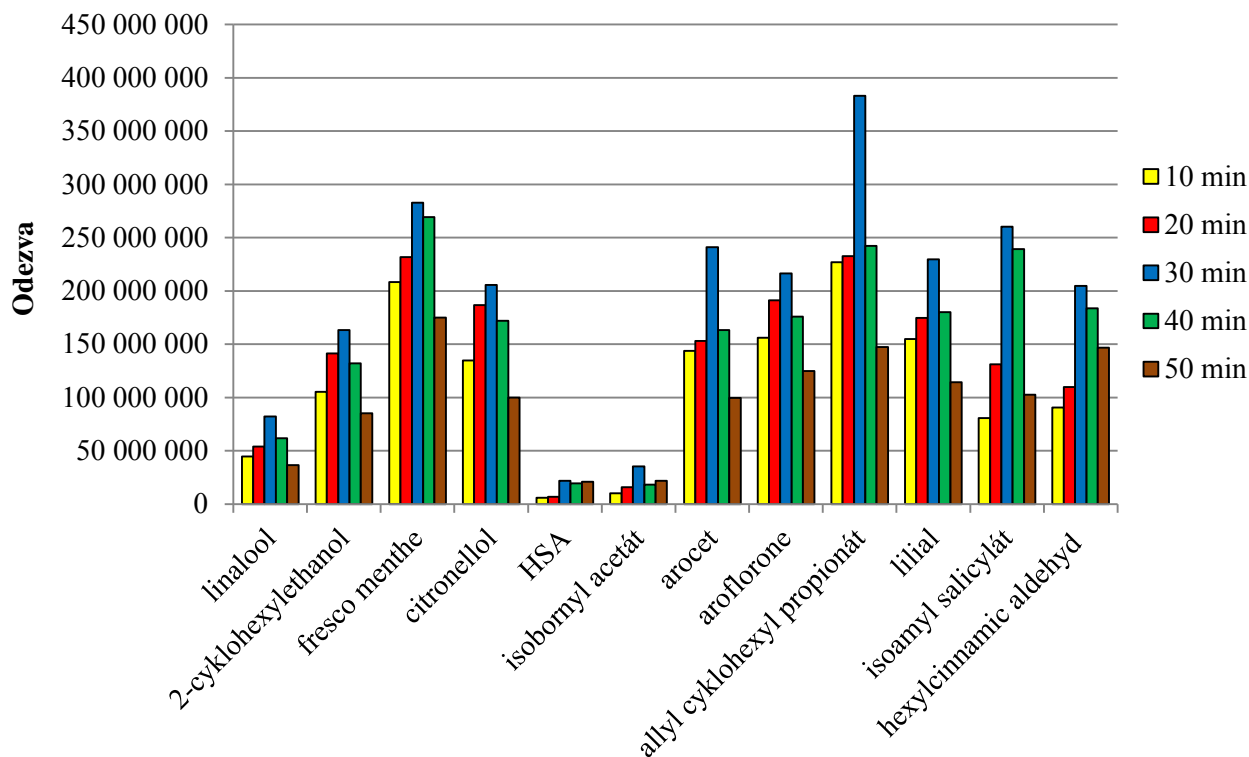
Pomocí tohoto grafického znázornění jsme prokázaly, že se zvyšující se teplotou roste také odezva detektoru pro sledované analyty. Tato odezva se zvyšovala až do teploty 70 °C. Při dalším zvyšování teploty byla již odezva nižší. Při teplotě 90 °C docházelo ke značnému odpařování vody ve vodní lázni a tím se narušila rovnováha mezi kapalnou a plynnou fází.

Po provedeném porovnání výsledků byla proto jako optimální zvolena teplota sorpce 70 °C.

4.2.6 Čas sorpce

Posledním parametrem, který bylo zapotřebí optimalizovat, byl čas sorpce. Pro potřeby optimalizace bylo testování provedeno při těchto časech: 10, 20, 30, 40 a 50 min. Při optimalizaci teploty sorpce bylo použito modré vlákno, měřeno bylo head-space s přidavkem 3,5 g NaCl při 70 °C.

Výsledky tohoto kroku optimalizace jsou graficky znázorněny v grafu 8.



Graf 8: Graf závislosti odezvy sledovaných analytů na času sorpce

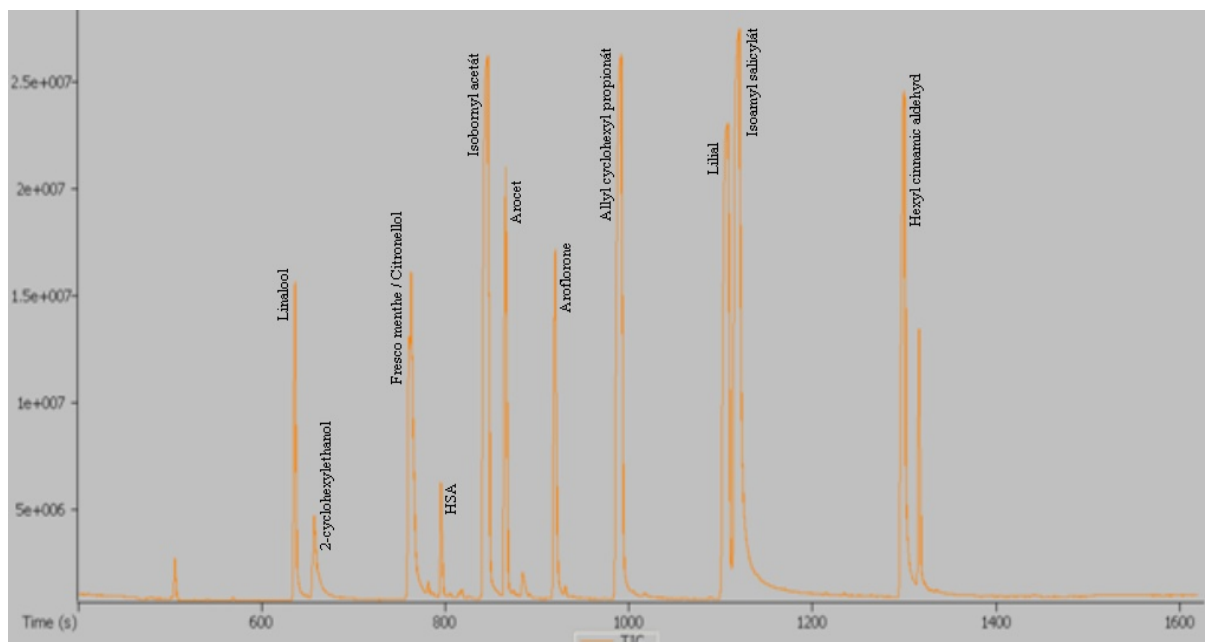
Pokud zhodnotíme tento grafický záznam je zřejmé, že do 30. minuty sorpce analytů odezva roste, poté se u všech analytů snižuje. Tento pokles může být pravděpodobně způsoben zpětnou desorcí, což však experimentálně nebylo ověřováno.

Na základě porovnání výsledků bylo konstatováno, že optimální dobou sorpce je 30 min.

4.2.7 Optimalizovaná metoda SPME

Tabulka 39: Výsledné optimalizované parametry SPME metody

Typ vlákna:	65 µm PDMS/DVB (modré)
Provedení:	head-space
Vliv vysolování:	přídavek 3,5 g NaCl
Teplota:	70 °C
Doba ustálení rovnováhy:	5 min
Doba expozice vlákna:	30 min
Objem vialky:	42 ml
Objem vzorku:	14 ml
Rychlost míchání:	500 ot/min



Obr. 32: Chromatogram směrného standardu při použití optimalizované metody SPME a teplotního programu 5.

4.3 Stanovení analytických parametrů – LOD a LOQ

Stanovení meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ) bylo podrobně popsáno v kapitole 3.2.6. V tabulce 40 jsou uvedeny směrnice kalibračních křivek jednotlivých standardů, průměrné hodnoty šumu a vypočítané meze detekce a stanovitelnosti. Šum byl stanovován z chromatogramu, který odpovídal koncentraci nejnižšího bodu kalibrační křivky daného standardu.

Kalibrační křivky jednotlivých standardů jsou prezentovány v příloze 2 v grafech 24 - 35.

Tabulka 40: Meze detekce a meze stanovitelnosti

Standard	šum	směrnice	LOD (ng·ml ⁻¹)	LOQ (ng·ml ⁻¹)
Linalool	55,76	568291	0,0003	0,0010
2-cyklohexylethanol	80,67	291953	0,0008	0,0028
Fresco menthe	40,42	4155280	0,00003	0,0001
Citronellol	95,38	1581135	0,0002	0,0006
HSA	95,10	12354	0,0231	0,0770
Isobornyl acetát	38,50	697230	0,0002	0,0006
Arocet	67,18	3108978	0,0001	0,0002
Aroflorone	40,74	1495120	0,0001	0,0003
Allyl cyklohexyl propionát	130,22	1865470	0,0002	0,0007
Lilial	39,00	1271008	0,0001	0,0003
Isoamyl salicylát	35,91	1414419	0,0001	0,0003
Hexylcinnamic aldehyd	106,93	150890	0,0021	0,0071

4.4 Nejistoty analytických výsledků

Pro minimalizaci nejistoty byl striktně dodržován postup odběru, transportu, uchování a manipulace se vzorkem během celého procesu analýzy, který byl podrobně popsán v kapitolách 2.5.1 až 2.5.5.

Každý den před začátkem měření byl nejdříve proměřen blank (MQ voda, 3,5 g NaCl, míchadlo), ze kterého bylo možné posoudit negativní dopad pracovního prostředí. Vzhledem k tomu, že ve stejné laboratoři, kde probíhala příprava vzorků a sorpce na SPME vlákna, probíhala současně i práce spojená s izolací xenobiotik z jehličí a zároveň se v této laboratoři vyskytovalo velké množství pracovníků, byly zpočátku mého měření některé analyty v blanku detekovány a občas dosahovaly vysokých hodnot. Proto musela být celá práce přesunuta do menší laboratoře, kde nepůsobilo tolik rušivých vlivů. Po přesunu do jiné laboratoře již byl blank negativní.

V důsledku toho, že z jednotlivých standardů byly nejdříve připraveny zásobní roztoky v cyklohexanu a následně zásobní roztoky v acetonu, byla také u těchto dvou rozpouštědel posuzována případná kontaminace; tato nebyla prokázána, obě rozpouštědla byla v pořádku.

4.4.1 Opakovatelnost měření

Pro stanovení opakovatelnosti měření byl použit vzorek Milli-Q vody, který byl záměrně kontaminován roztokem směšného standardu II a reálný vzorek odpadní vody odebraný z ČOV Brno-Modřice dne 25. 3. 2014. Oba vzorky byly analyzovány 5x a z výsledků byla stanovena RSD.

Tabulka 41: *Opakovatelnost měření jako relativní směrodatná odchylka*

Standard	RSD pro reálný vzorek (%)	RSD pro MQ (%)
Linalool	8,01	3,53
2-cyklohexylethanol	10,25	1,07
Fresco menthe	9,08	0,26
Citronellol	4,05	0,57
HSA	3,36	1,88
Isobornyl acetát	4,98	1,31
Arocet	7,31	3,48
Aroflorone	6,57	1,40
Allyl cyklohexyl propionát	8,32	1,37
Lilial	2,78	1,88
Isoamyl salicylát	8,04	5,35
Hexylcinnamic aldehyd	10,70	2,03

Relativní směrodatná odchylka pro reálný vzorek se pohybovala v intervalu 2,78 – 10,7 % a pro cíleně kontaminovanou Milli-Q vodu v intervalu 0,25 – 5,35 %. Z výsledných hodnot RSD je patrné, že při analýze reálných vzorků se již projevuje matriční efekt.

4.5 Vyhodnocení reálných vzorků odpadních vod

Všechny reálné vzorky byly odebrány z již popsanych čistíren odpadních vod, tj. ČOV Brno-Modřice, ČOV Hodonín a ČOV Luhačovice. Vzorky byly odebírány na přítoku a na odtoku z ČOV jako slévané 24 hodinové vzorky. Pomocí optimalizované SPME metody byly z reálných vzorků (metoda je uvedena v kapitole 4.2.7, v tabulce 39) izolovány zjišťované analyty, které byly v případě, že byly ve vzorku odpadní vody obsaženy, následně detekovány metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí.

Pro kvantifikaci analytů ve vzorcích byla použita metoda standardního přídatku, která je popsána v kapitole 3.2.5.1.

4.5.1 ČOV Brno-Modřice

Vzorky z ČOV Brno-Modřice byly odebírány pro pilotní studii dne 25. 3. a 3. 4. 2014, pro týdenní odběr potom v termínu od 6. 4. do 10. 4. 2014.

Jak je z tabulky 42 patrné, na přítoku do ČOV Brno-Modřice byly detekovány, až na ojedinělé případy u isoamyl salicylátu, téměř všechny zjišťované analyty. Výjimku však tvořily pouze 2-cyklohexylethanol a HSA, které nebyly detekovány žádný den. Naopak na odtoku z ČOV již všechny sledované analyty detekovány nebyly, což lze přičíst tomu, že v průběhu čistírenské technologie došlo k pravděpodobně k jejich odstranění.

Největší koncentrace byly po celou dobu sledování zjištěny u linaloolu a citronellolu, přičemž vysoké hodnoty koncentrací u těchto analytů byly kvantifikovány u odpadní vody ze dne 3. 4. 2014; u linaloolu byla tato hodnota $4,032 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$, u citronellolu $3,605 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Z tabulky 42 rovněž jednoznačně vyplývá, že u všech analytů byly hodnoty na odtoku nižší než na přítoku, což je možné vysvětlit tím, že technologický proces používaný na této ČOV umožní eliminovat tyto lineární syntetické musk sloučeniny z odpadní vody.

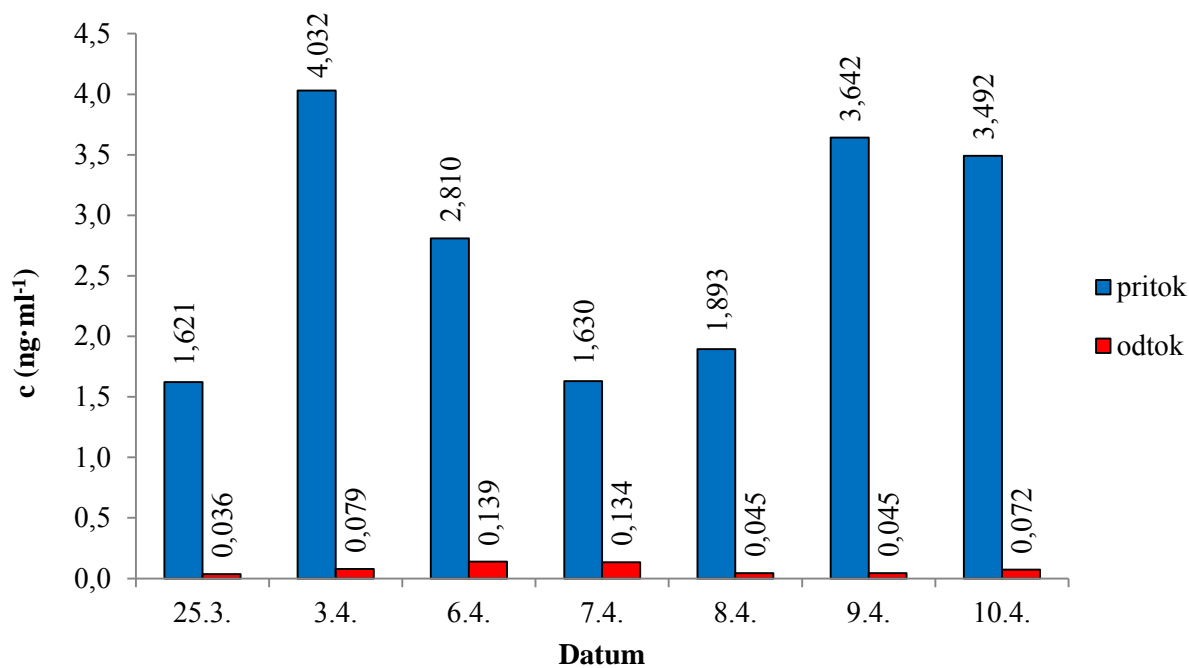
Pro lepší názornost byly zjištěné koncentrace jednotlivých sledovaných analytů na přítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice zpracovány do grafů a jsou prezentovány v grafech 9 – 18.

Tabulka 42: Zjištěné koncentrace sledovaných analytů ve vzorcích odpadní vody na přítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice v ng·ml⁻¹

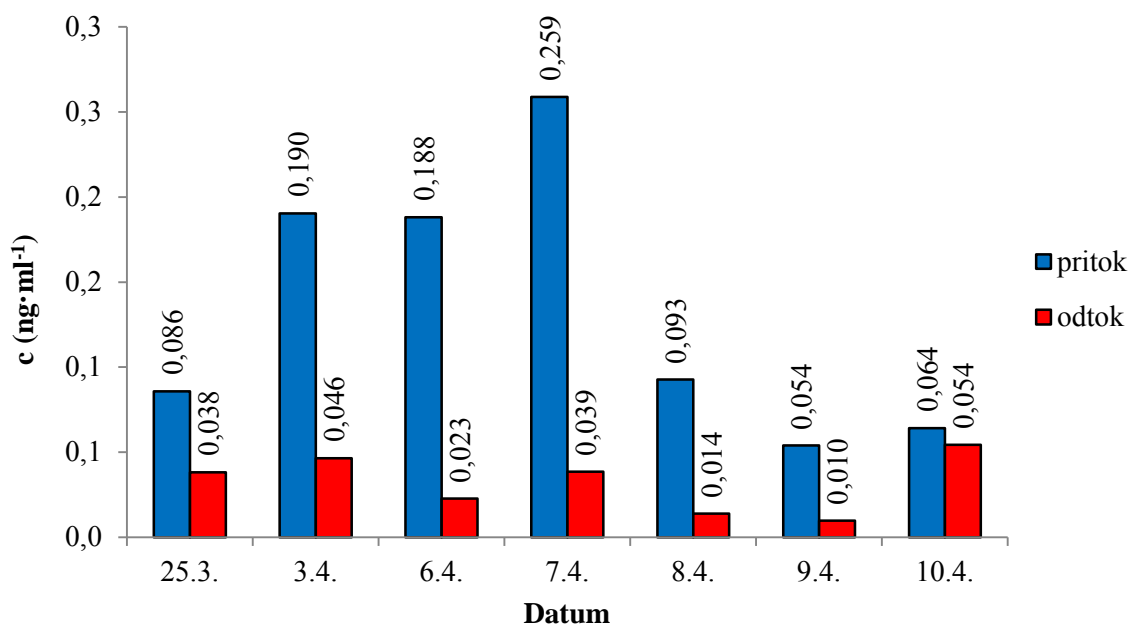
		Výsledné koncentrace (ng·ml ⁻¹)						
		25.3.	3.4.	6.4.	7.4.	8.4.	9.4.	10.4.
Linalool	Přítok	1,621	4,032	2,810	1,630	1,894	3,642	3,492
	Odtok	0,037	0,079	0,139	0,135	0,045	0,045	0,072
2-cyklohexylethanol	Přítok	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Odtok	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fresco menthe	Přítok	0,086	0,190	0,188	0,259	0,093	0,054	0,064
	Odtok	0,038	0,047	0,023	0,039	0,014	0,010	0,054
Citronellol	Přítok	0,784	3,605	0,957	1,626	3,127	1,872	1,230
	Odtok	0,090	0,051	0,143	0,102	0,271	0,180	0,137
HSA	Přítok	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Odtok	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Isobornyl acetát	Přítok	0,238	0,528	0,642	1,444	0,383	0,295	0,160
	Odtok	0,048	0,074	0,027	0,056	0,024	0,019	0,068
Arocet	Přítok	0,189	0,285	1,602	0,837	0,240	0,170	0,168
	Odtok	0,040	0,073	0,057	0,070	0,031	0,028	0,042
Aroflorone	Přítok	0,581	0,171	0,142	0,323	0,062	0,039	0,223
	Odtok	0,052	0,068	0,025	0,041	0,024	0,015	0,067
Allyl cyklohexyl propionát	Přítok	0,266	0,150	0,338	0,309	0,156	0,162	0,136
	Odtok	0,035	0,043	0,033	ND	0,025	0,015	0,057
Lilial	Přítok	0,101	0,091	0,273	0,167	0,107	0,117	0,067
	Odtok	0,027	0,036	0,045	0,042	0,036	0,021	0,035
Isoamyl salicylát	Přítok	ND	0,871	0,485	0,277	0,765	0,563	ND
	Odtok	ND	ND	0,053	0,056	0,054	0,018	ND
Hexylcinnamic aldehyd	Přítok	0,751	1,201	0,817	0,682	0,280	0,980	0,147
	Odtok	0,205	ND	ND	< LOQ	< LOQ	ND	ND

ND – nedetekováno (pod mezí detekce)

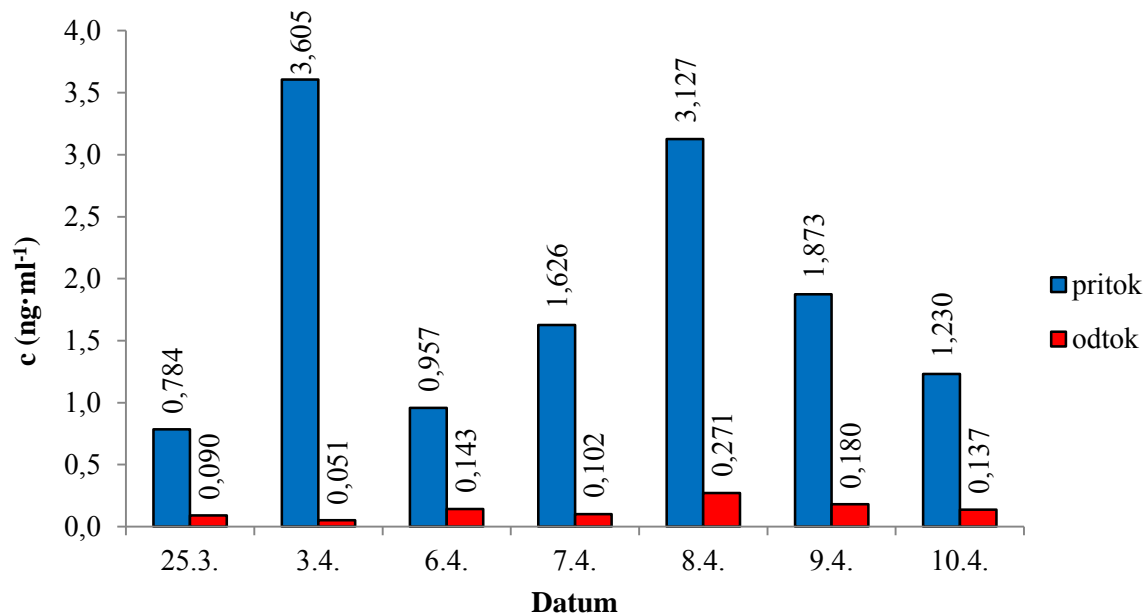
< LOQ – detekováno, nekvantifikováno (pod mezí stanovitelnosti)



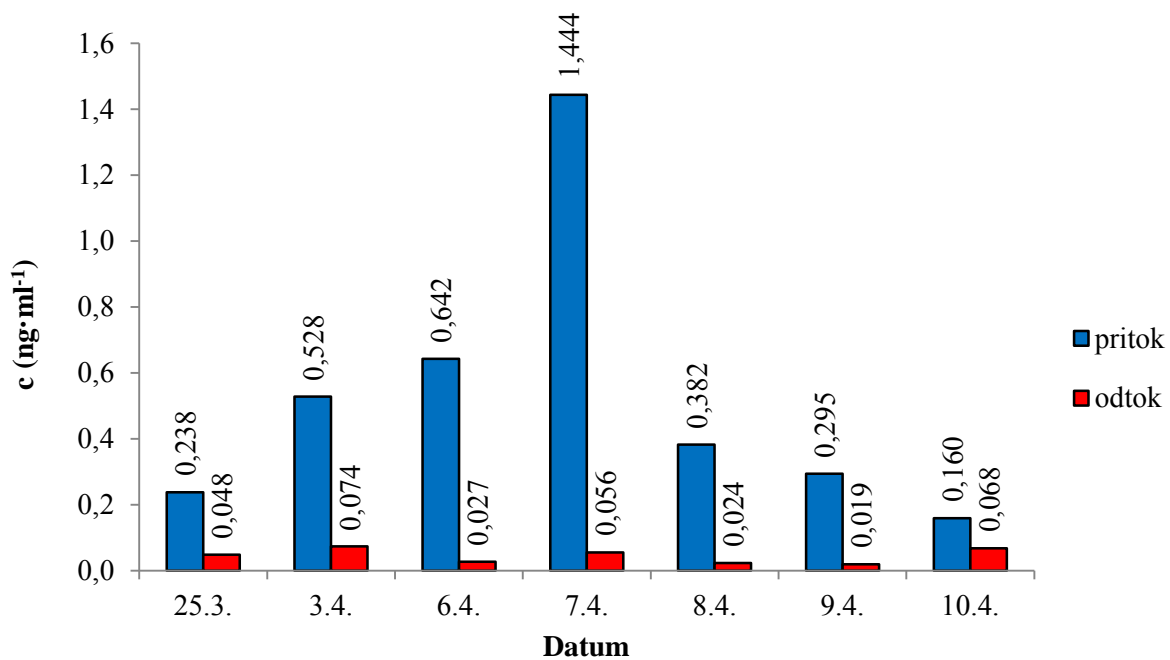
Graf 9: *Koncentrace linaloolu na prítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



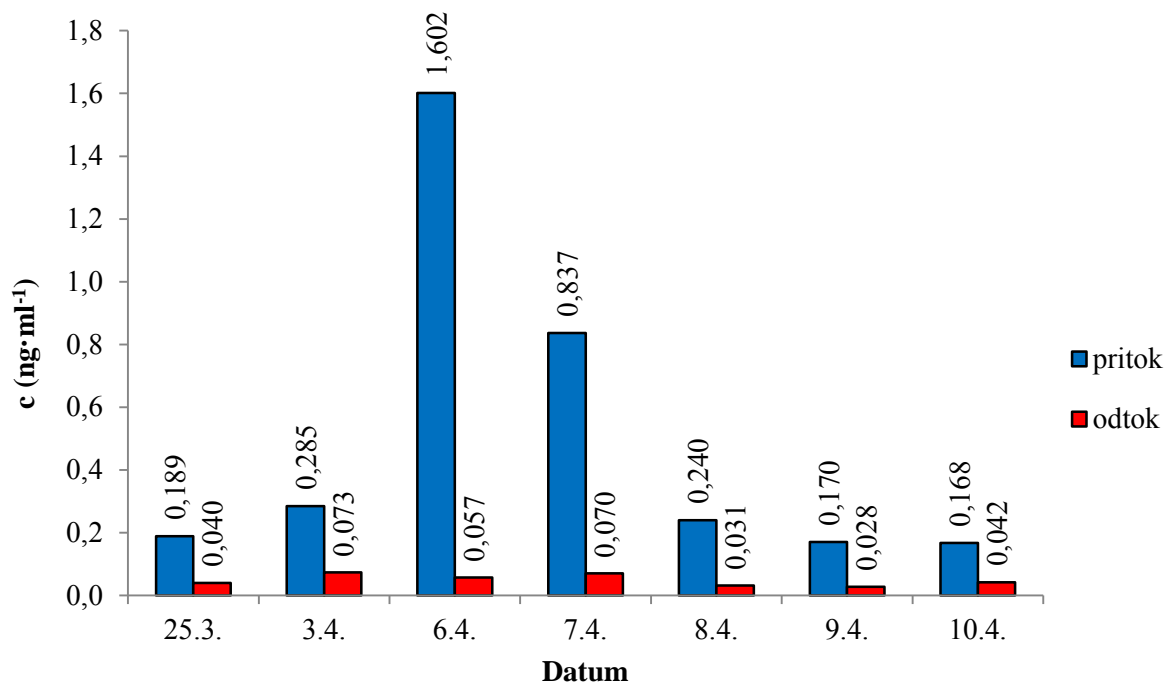
Graf 10: *Koncentrace fresco menthe na prítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



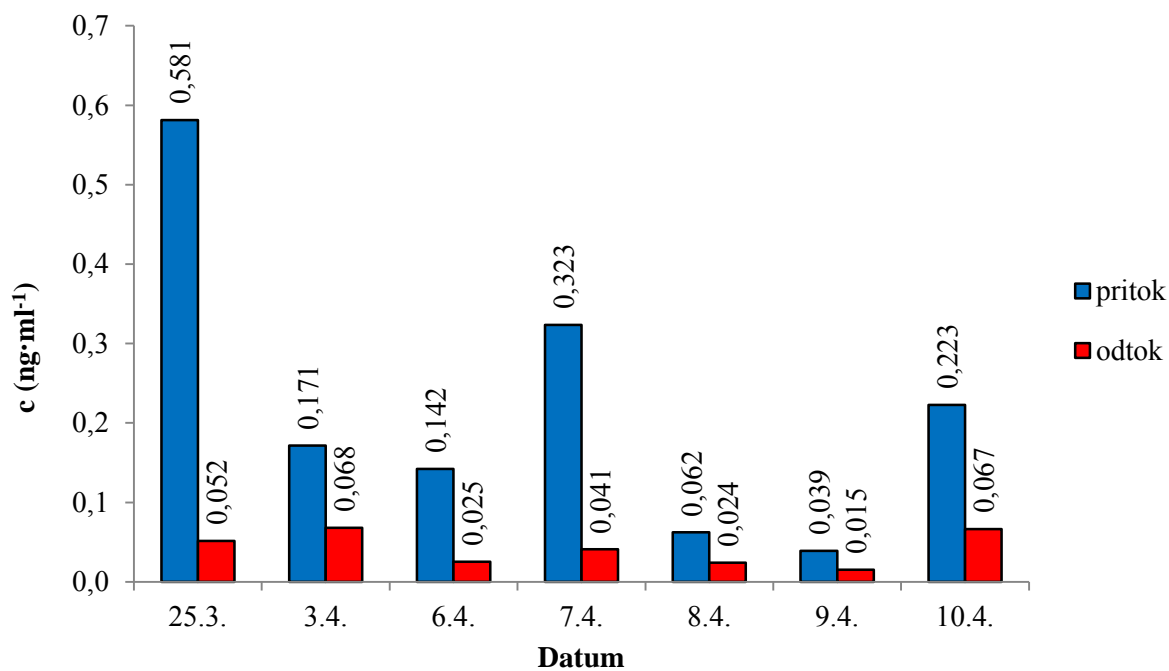
Graf 11: *Koncentrace citronellolu na prítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



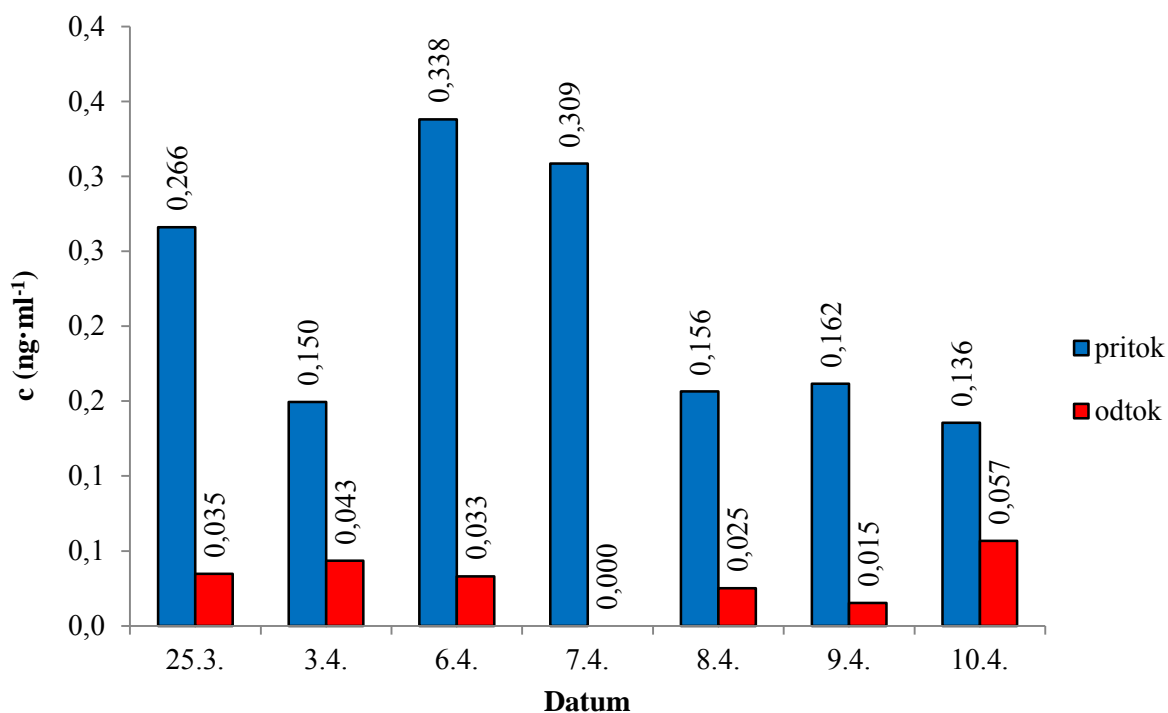
Graf 12: *Koncentrace isobornyl acetátu na prítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



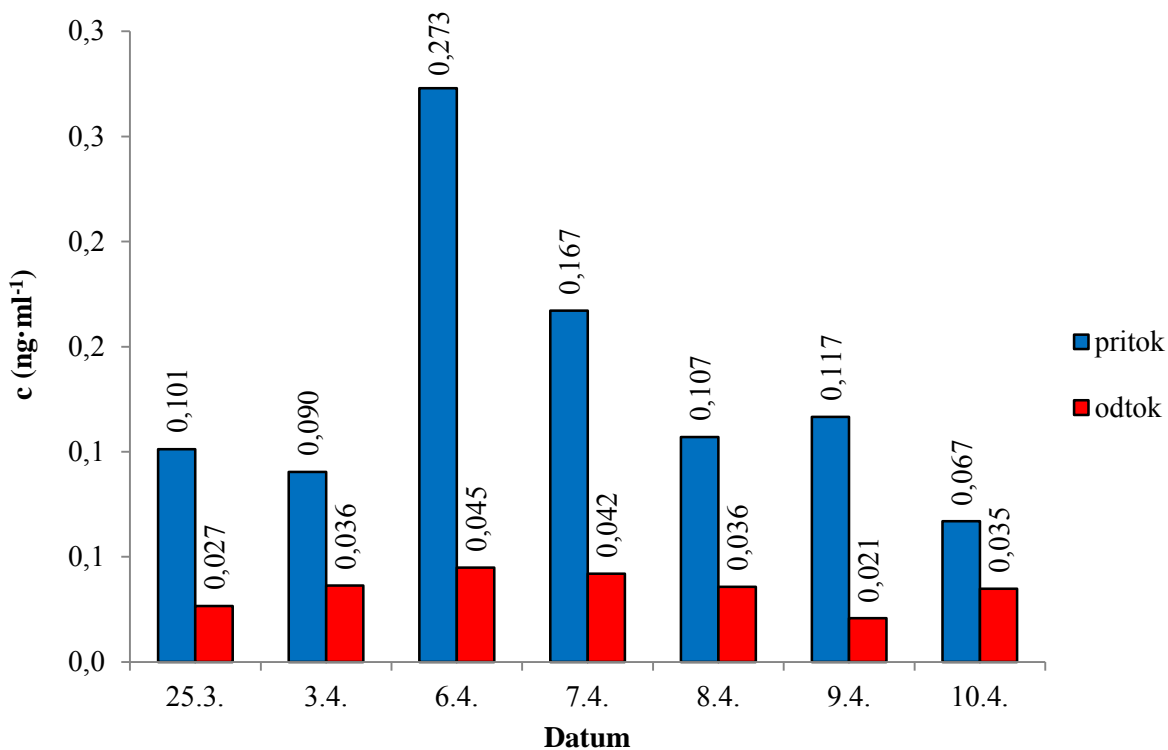
Graf 13: *Koncentrace aroacetu na přítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



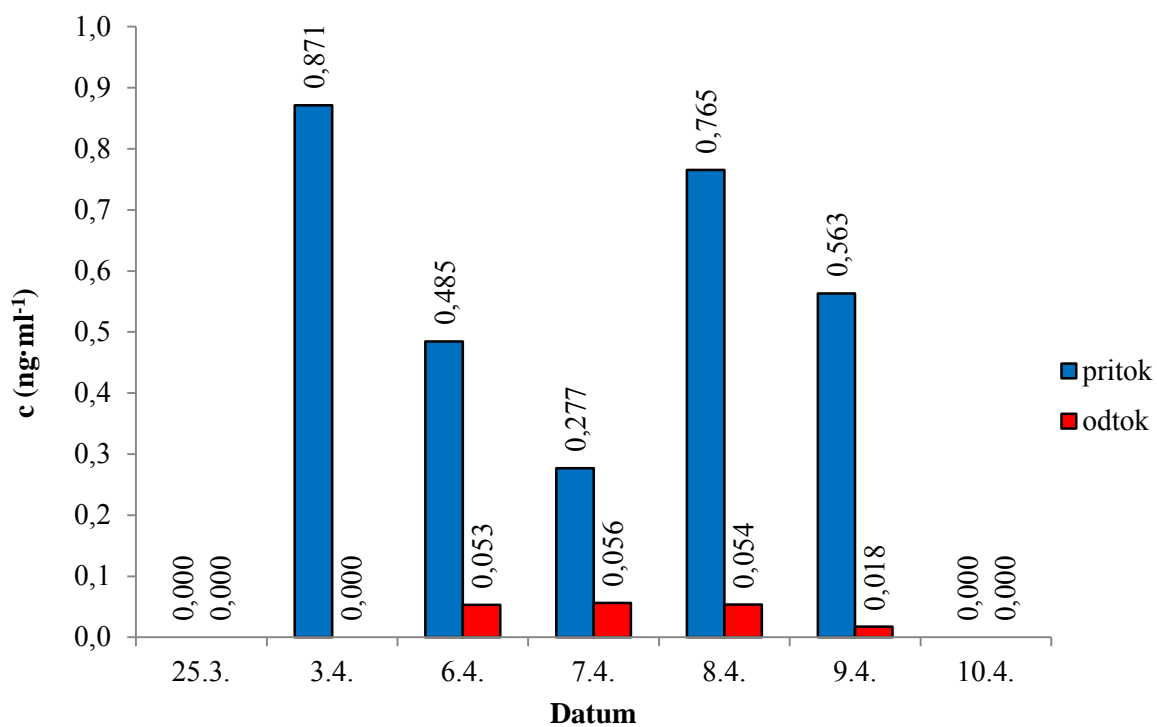
Graf 14: *Koncentrace arofloronu na přítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



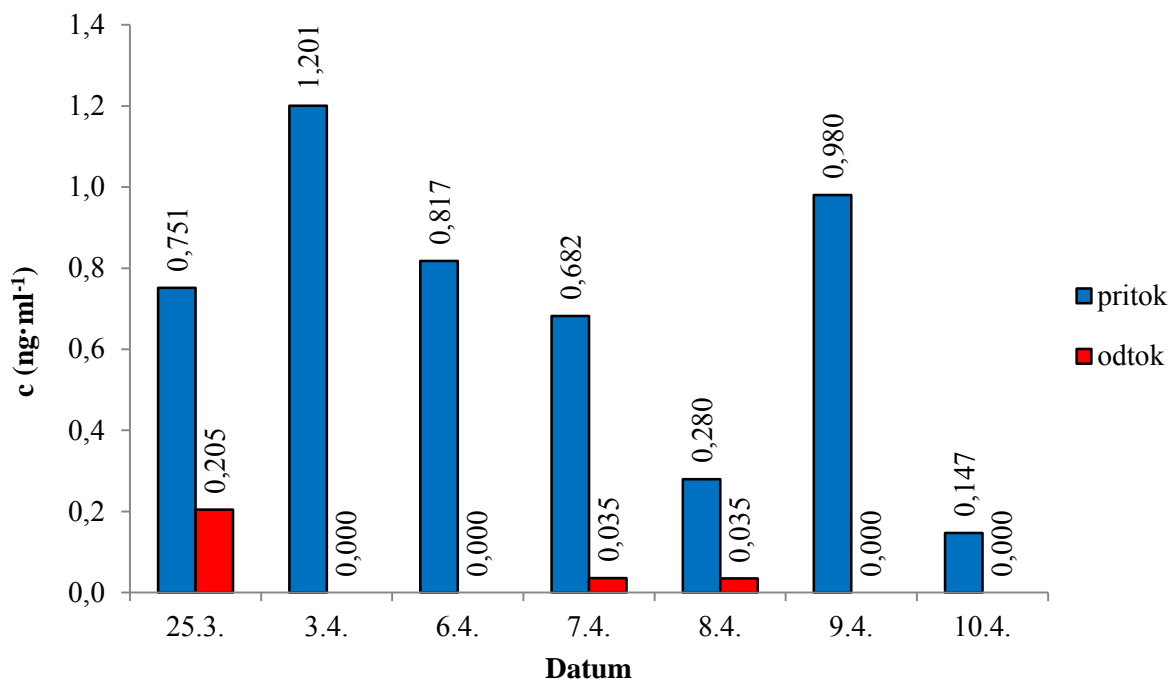
Graf 15: *Koncentrace allyl cyklohexyl propionátu na přítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



Graf 16: *Koncentrace lilialu na přítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



Graf 17: *Koncentrace isoamyl salicylátu na prítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*



Graf 18: *Koncentrace hexylcinnamic aldehydu na prítoku a odtoku z ČOV Brno-Modřice*

4.5.2 Porovnání analýz odpadní vody odebrané z ČOV Hodonín, ČOV Luhačovice a ČOV Brno-Modřice

Koncentrace prokázané ve vzorcích odpadní vody z ČOV Hodonín a z ČOV Luhačovice byly porovnávány se vzorky odpadní vody z ČOV Brno - Modřice. Hodnoty koncentrací analytů zjištěné v odpadní vodě z ČOV Brno-Modřice však představují průměrné koncentrace jednotlivých analytů za celé hodnocené období, které byly individuálně prezentovány v kapitole 4.5.1.

Tyto koncentrace byly zpracovány do tabulky 43. Zajímavým zjištěním bylo to, že v odpadní vodě odebrané z ČOV v Luhačovicích, jejíž projektová kapacita pro EO je z vybraných ČOV nejnižší, byly nejvyšší koncentrace u většiny sledovaných analytů (2-cyklohexylethanol, citronellol, isobornyl acetát, allyl cyklohexyl propionát, lilial, hexylcinnamic aldehyd), přičemž nejvyšší hodnota byla kvantifikována u citronellolu, a to $4,748 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$. Toto zjištění je s největší pravděpodobností dáno charakterem města Luhačovice. Město Luhačovice představuje lázeňské město, kde jsou vonné substance ve velké míře používané do koupelí a při dalších nejrůznějších lázeňských procedurách. Kromě toho se lázeňští hosté také více věnují osobní hygieně, ženy i muži používají více kosmetických přípravků, protože se chtějí líbit svým protějškům.

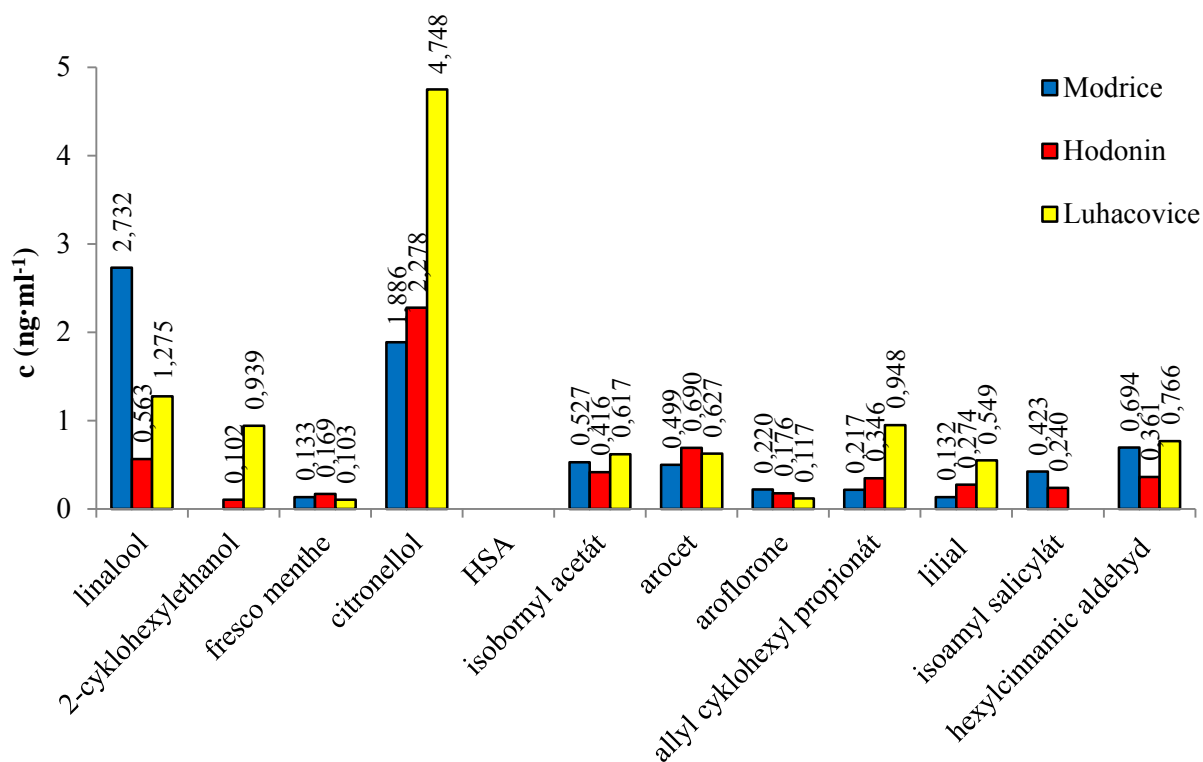
Tyto koncentrace byly pro názornost rovněž graficky zpracovány; pomocí grafu 19 jsou porovnány koncentrace na přítoku a pomocí grafu 20 potom koncentrace na odtoku z již popsaných ČOV.

Tabulka 43: Zjištěné koncentrace sledovaných analytů ve vzorcích odpadní vody na přítoku a odtoku z ČOV Luhačovice, ČOV Hodonín a průměrné koncentrace z ČOV Brno-Modřice v $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$

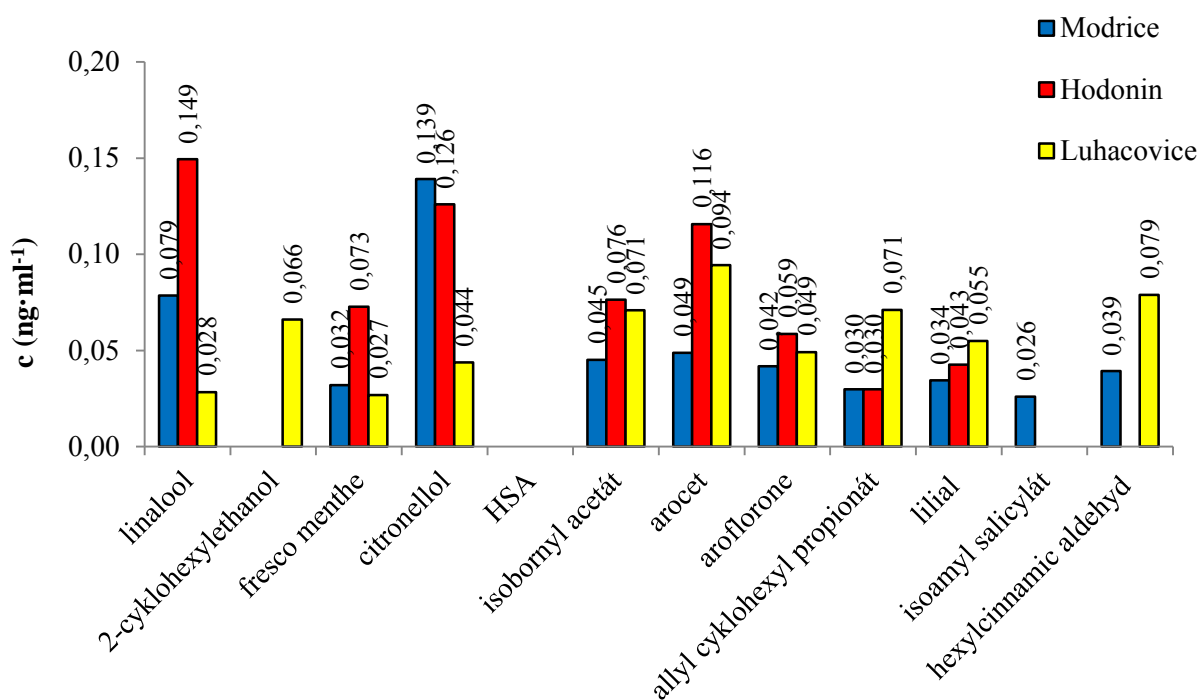
		Výsledné koncentrace ($\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$)		
		ČOV Hodonín	ČOV Luhačovice	ČOV Brno-Modřice
Linalool	Přítok	0,563	1,275	2,732
	Odtok	0,149	0,028	0,079
2-cyklohexylethanol	Přítok	0,102	0,939	ND
	Odtok	ND	0,066	ND
Fresco menthe	Přítok	0,169	0,103	0,133
	Odtok	0,073	0,027	0,032
Citronellol	Přítok	2,278	4,748	1,886
	Odtok	0,126	0,044	0,139
HSA	Přítok	ND	ND	ND
	Odtok	ND	ND	ND
Isobornyl acetát	Přítok	0,416	0,617	0,527
	Odtok	0,076	0,071	0,045
Arocet	Přítok	0,690	0,627	0,499
	Odtok	0,116	0,094	0,049
Aroflorone	Přítok	0,176	0,117	0,220
	Odtok	0,059	0,049	0,042
Allyl cyklohexyl propionát	Přítok	0,346	0,948	0,217
	Odtok	0,030	0,071	0,030
Lilial	Přítok	0,274	0,549	0,132
	Odtok	0,043	0,055	0,034
Isoamyl salicylát	Přítok	0,240	ND	0,423
	Odtok	ND	ND	0,026
Hexylcinnamic aldehyd	Přítok	0,361	0,766	0,694
	Odtok	ND	0,079	< LOQ

ND – nedetekováno (pod mezí detekce)

< LOQ – detekováno, nekvantifikováno (pod mezí stanovitelnosti)



Graf 19: Srovnání koncentrací na přítoku z ČOV Brno-Modřice, ČOV Hodonín a ČOV Luhačovice



Graf 20: Srovnání koncentrací na odtoku z ČOV Brno-Modřice, ČOV Hodonín a ČOV Luhačovice

4.5.3 Účinnost čistícího procesu

Na základně naměřených koncentrací byla vyhodnocena účinnost odstranění sledovaných analytů na vybraných ČOV. Výsledky jsou přehledně zpracovány do tabulky 44.

Z tabulky je vidět, že u všech sledovaných analytů bylo dosahováno vysokých účinností odstranění. Nejlépe byl odstraňován linalool (průměrně 96,71 %), nejhůře potom fresco menthe (průměrně 69,45 %)

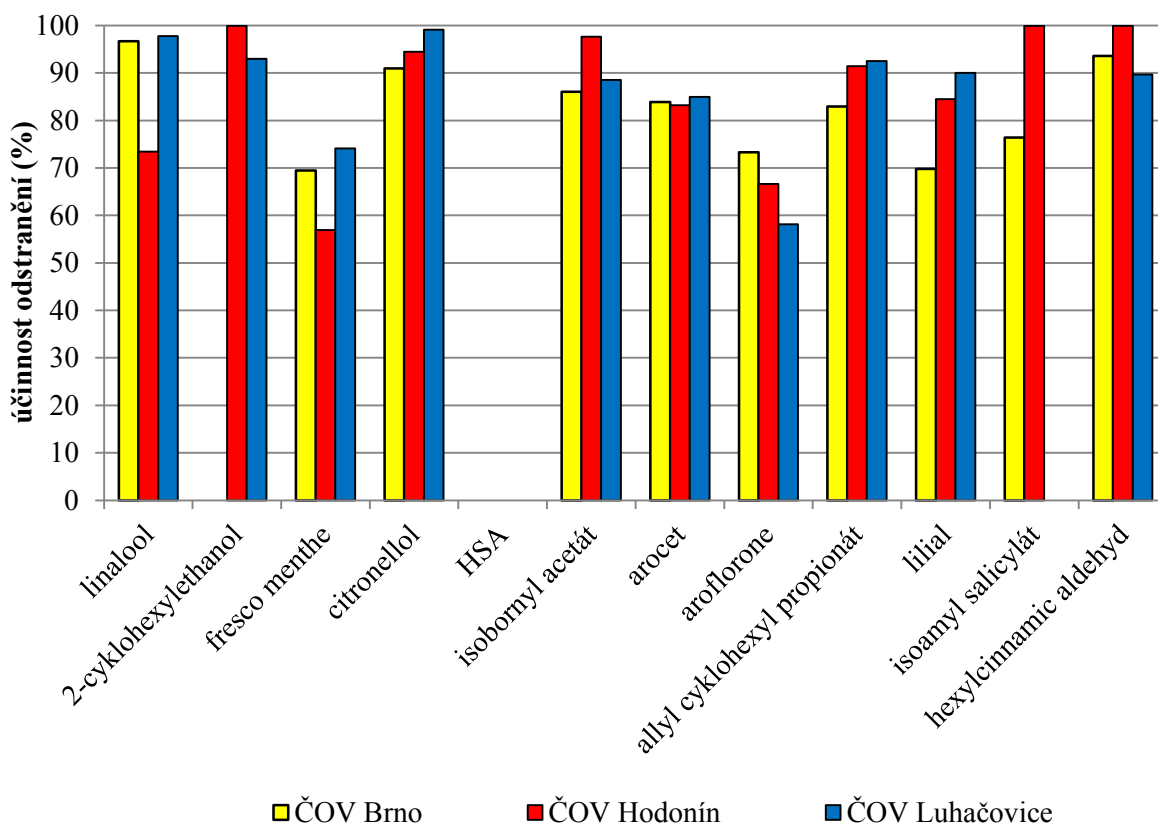
V tabulce 45 jsou pak uvedeny účinnosti čistících procesů na vybraných ČOV, které jsou pro názornost graficky zpracovány do grafu 21. Z tohoto grafu je zřejmé, že účinnosti odstranění se na vybraných ČOV velmi neliší.

Tabulka 44: Účinnost čistícího procesu na ČOV Brno-Modřice

Analyt	Odstranění (%)							Průměr
	25. 3.	3. 4.	6. 4.	7. 4.	8. 4.	9. 4.	10. 4.	
Linalool	97,75	98,05	95,05	91,75	97,65	98,77	97,93	96,71
2-cyklohexylethanol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fresco menthe	55,35	75,60	87,91	85,09	84,94	81,91	15,35	69,45
Citronellol	88,56	98,58	85,04	93,74	91,33	90,39	88,90	90,93
HSA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Isobornyl acetát	79,72	86,06	95,81	96,13	93,83	93,40	57,23	86,03
Arocet	78,69	74,30	96,42	91,64	86,97	83,82	75,24	83,87
Aroflorone	91,13	60,18	82,17	87,35	61,44	60,63	70,13	73,29
Allyl cyklohexyl propionát	86,94	70,96	90,23	> 99,9	83,92	90,51	58,21	82,97
Lilial	73,73	59,84	83,55	74,91	66,53	82,19	47,86	69,80
Isoamyl salicylát	ND	> 99,9	88,99	79,66	92,99	96,86	ND	76,42
Hexylcinnamic aldehyd	72,75	> 99,9	> 99,9	94,82	87,64	> 99,9	> 99,9	93,60

Tabulka 45: Porovnání účinnosti odstranění sledovaných analytů ve sledovaných ČOV

Analyt	průměr ČOV Brno-Modřice (%)	ČOV Hodonín (%)	ČOV Luhačovice (%)
Linalool	96,71	73,45	97,78
2-cyklohexylethanol	ND	> 99,9	92,96
Fresco menthe	69,45	56,89	74,12
Citronellol	90,93	94,47	99,08
HSA	ND	ND	ND
Isobornyl acetát	86,03	97,61	88,50
Arocet	83,87	83,22	84,97
Aroflorone	73,29	66,62	58,14
Allyl cyklohexyl propionát	82,97	91,40	92,50
Lilial	69,80	84,49	89,99
Isoamyl salicylát	76,42	> 99,9	ND
Hexylcinnamic aldehyd	93,60	> 99,9	89,71



Graf 21: Porovnání účinnosti čistícího procesu v ČOV Brno-Modřice, ČOV Hodonín a ČOV Luhačovice

4.5.4 Kontaminace povrchových vod

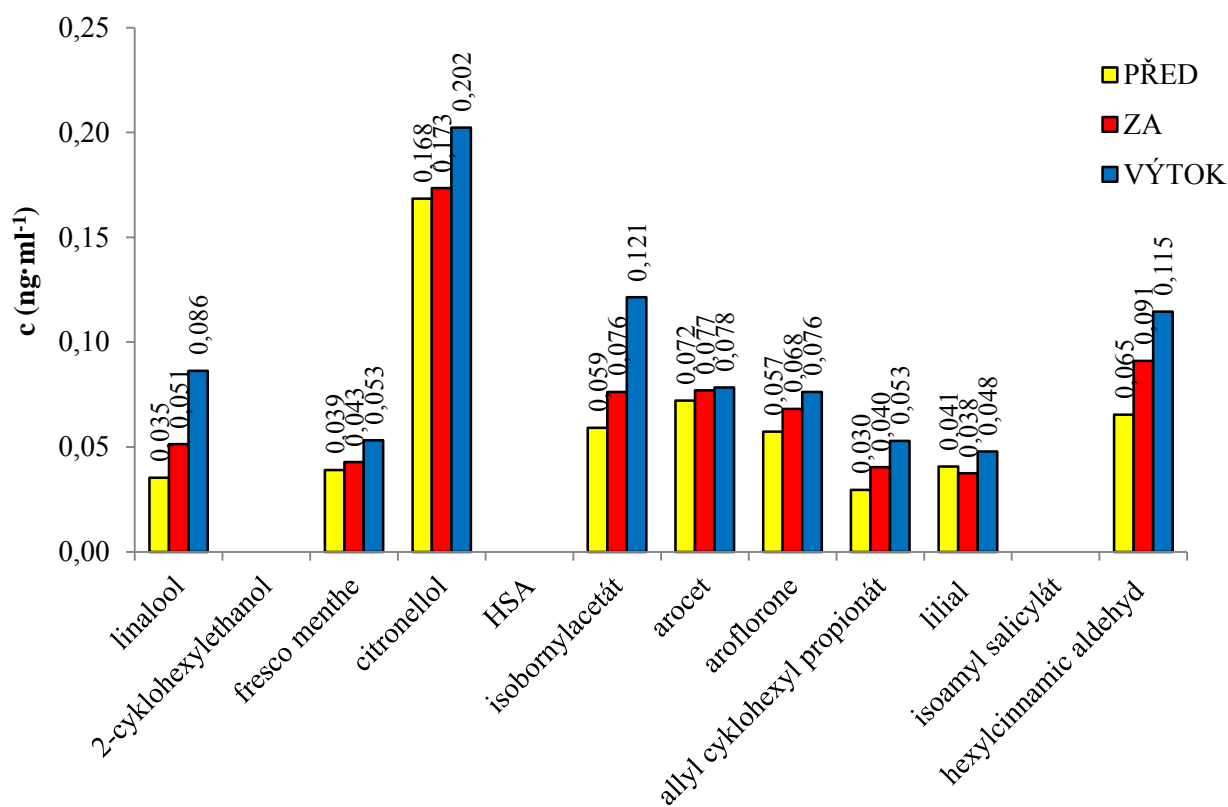
Pro zjištění, zda neúplně vyčištěná odpadní voda, která ještě může obsahovat sledované analyty, má vliv na zvýšení kontaminace povrchové vody, byla odebrána povrchová voda z řeky Svratky. Řeka Svratka byla vybrána proto, že jsou do ní vypouštěny odpadní vody z ČOV Brno-Modřice. Vzorky povrchové vody byly odebírány cca 1 km před ČOV, 1 km za ČOV a potom přímo na odtoku vyčištěné odpadní vody do této řeky; tento odběr byl uskutečněn dne 6. 4. 2014, v 15 hod.

V tabulce 46 jsou prezentovány výsledné koncentrace zjištěné v povrchové vodě před ČOV, za ČOV a na výtoku z ČOV Brno - Modřice. Jak vyplývá z výsledků zde uvedených, téměř u všech sledovaných analytů detekovaných v odpadní vodě z ČOV Brno - Modřice byla prokázána vyšší koncentrace u vzorků, které byly odebírány za ČOV, než u vzorků odebíraných před ČOV. Můžeme se domnívat, že se zde patrně může nacházet dosud neidentifikovaný sekundární zdroj kontaminace. Nejvyšší koncentrace byly detekovány přímo na výtoku z ČOV. Jedná se však pouze o velmi malé zvýšení koncentrací; nálezy na výtoku z ČOV korespondují s hodnotami zjištěnými v odpadní vodě na odtoku z ČOV.

Pro názornost byly výsledné koncentrace sledovaných analytů graficky znázorněny v grafu 22.

Tabulka 46: Zjištěné koncentrace sledovaných analytů 1 km před ČOV, 1 km za ČOV a na výtoku z ČOV

	Výsledné koncentrace (ng·ml ⁻¹)		
	Před ČOV	Za ČOV	Výtok z ČOV
Linalool	0,035	0,051	0,086
2-cyklohexylethanol	ND	ND	ND
Fresco menthe	0,039	0,043	0,053
Citronellol	0,168	0,173	0,202
HSA	ND	ND	ND
Isobornylacetát	0,059	0,076	0,121
Arocet	0,072	0,077	0,078
Aroflorone	0,057	0,068	0,076
Allyl cyklohexyl propionát	0,030	0,040	0,053
Lilial	0,041	0,038	0,048
Isoamyl salicylát	ND	ND	ND
Hexylcinnamic aldehyd	< LOQ	0,091	0,115



Graf 22: Porovnání koncentrací sledovaných analytů 1 km před ČOV, 1 km za ČOV a na výtoku z ČOV

4.5.5 Produkty osobní péče

V průběhu ledna a února 2014 byla na FCH VUT v Brně zpracovávána pilotní studie zaměřená na zjištění obsahu lineárních musk sloučenin ve vybraných produktech osobní péče. Testováno bylo celkem 14 přípravků. Především se jednalo o vzorky šamponů, sprchových gelů a rovněž byl analyzován i přípravek na umývání nádobí. Konkrétně to byly tyto výrobky: produkty značek Garnier, Casada, Nivea, Head&Shoulders, Palmolive, Timotei, Oriflame, Cormen, Helios herb, Johnsons's, Balea, Shauma, Dove a Pur. Ze vzorků produktů osobní péče byly sledované analyty extrahovány na SPME vlákno. Desorpce a samotná analýza probíhala na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí.

V tabulce 47 a 48 jsou uvedeny zjištěné koncentrace v jednotlivých přípravcích, v grafu 23 jsou potom pro názornost prezentovány koncentrace vybraných lineárních musk sloučenin. Do grafu byly vybrány ty lineární musk sloučeniny, které byly nejčastěji detekovány ve vybraných přípravcích osobní péče.

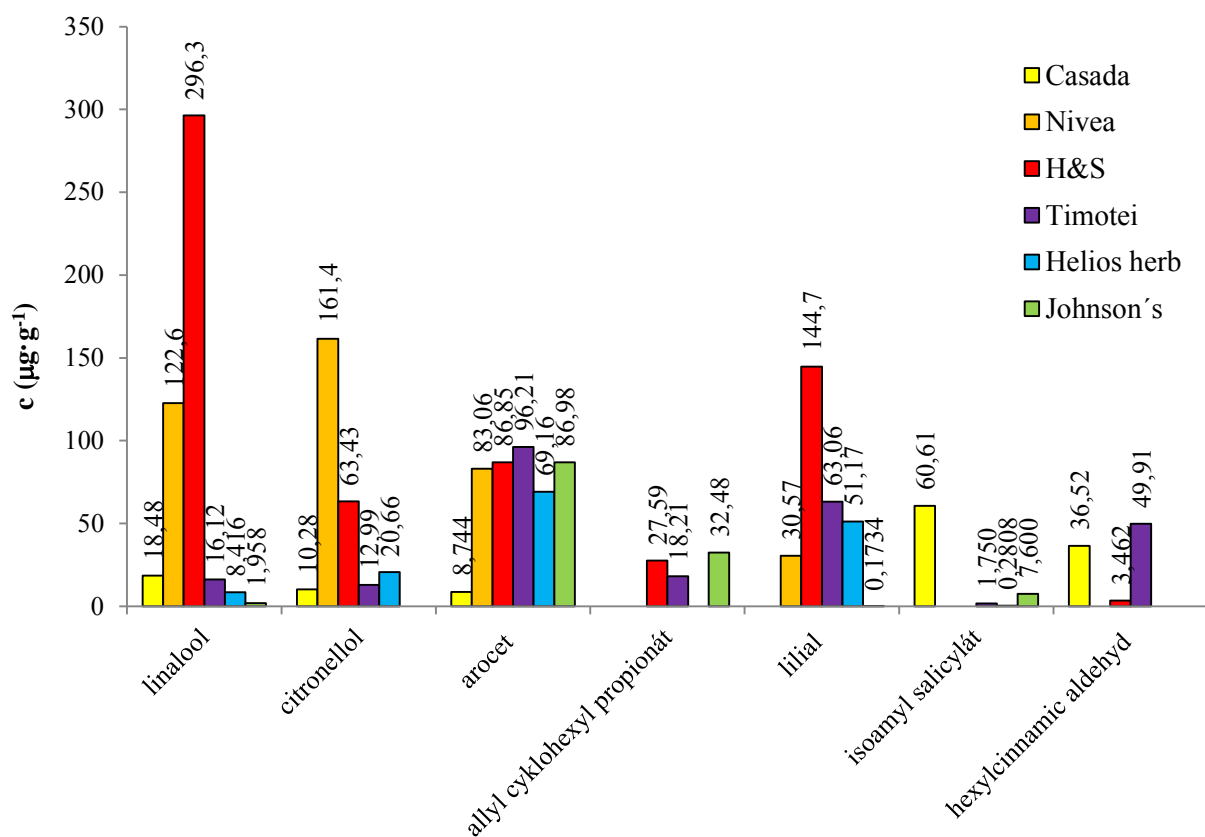
Pokud porovnáme výsledné koncentrace sledovaných lineárních musk sloučenin v produktech osobní péče s jejich výslednými koncentracemi v odpadních vodách, zejména pak na přítoku do ČOV, je zde vidět jistá podobnost. V odpadních vodách byla nejvyšší koncentrace zjištěna u linaloolu a citronellolu. Poměrně vysoké koncentrace byly zjištěny také u hexylcinnamic aldehydu, lilialu a isobornyl salicylátu a aroctetu. Proto lze konstatovat, že vybrané produkty osobní péče obsahovaly v největších koncentracích právě linalool, citronellol, aroctet a lilial. Tyto výsledky potvrdily náš původní předpoklad, že dominantním donorem lineárních syntetických musk sloučenin do odpadních vod jsou právě produkty osobní péče.

Tabulka 47: Zjištěné výsledné koncentrace sledovaných analytů ve vybraných přípravcích osobní péče

	Výsledné koncentrace ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)						
	Garnier	Casada	Nivea	H&S	Palmolive	Timotei	Oriflame
Linalool	10,01	18,48	122,6	296,3	49,15	16,12	ND
2-cyklohexylethano	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Citronellol	0,657	10,28	161,4	63,43	ND	12,99	ND
Isobornyl acetát	ND	ND	ND	ND	12,60	ND	ND
Fresco menthe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Aroctet	ND	8,744	83,06	86,85	27,30	96,21	ND
Aroflorone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Allyl cyklohexyl propionát	ND	ND	ND	27,59	ND	18,21	ND
Lilial	ND	ND	30,57	144,7	45,59	63,06	0,395
Isoamyl salicylát	ND	60,61	ND	ND	ND	1,750	ND
Hexylcinnamic aldehyd	ND	36,52	ND	3,462	12,93	49,91	ND

Tabulka 48: Zjištěné výsledné koncentrace sledovaných analytů ve vybraných přípravcích osobní péče

	Výsledné koncentrace ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)						
	Cormen	Helios herb	Johnson´s	Balea	Shauma	Dove	Pur
Linalool	0,492	8,416	1,958	109,5	ND	ND	16,33
2-cyklohexylethanol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Citronellol	1,132	20,66	ND	ND	ND	ND	11,41
Isobornyl acetát	0,193	1,898	ND	ND	ND	ND	ND
Fresco menthe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Arocet	0,532	69,16	86,98	32,49	27,90	ND	ND
Aroflorone	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Allyl cyklohexyl propionát	ND	ND	32,48	ND	ND	ND	ND
Lilial	0,523	51,17	0,173	ND	ND	202,3	ND
Isoamyl salicylát	ND	0,281	7,600	ND	ND	ND	1,136
Hexylcinnamic aldehyd	0,893	ND	ND	1,807	ND	ND	61,08



Graf 23: Porovnání obsahu vybraných sledovaných lineárních musk sloučenin ve vybraných produktech osobní péče

4.5.6 Porovnání našich výsledků s údaji publikovanými v literatuře

Pokud bychom chtěly porovnat výsledky naší studie s výsledky prezentovanými v literatuře, musíme konstatovat, že je to poněkud problematické. V literatuře jsou sice uvedeny práce, kde je posuzována eliminace syntetických musk sloučenin z odpadní vody, avšak tyto studie nejsou prioritně zaměřeny na lineární musk sloučeniny. Dalším důvodem, proč je obtížné provést toto porovnání je také to, že my jsme analyzovaly výhradně lineární syntetické musk sloučeniny české provenience, které nemusely být mimo ČR používány jako přísady do komerčních výrobků. Lineární musk sloučeniny jiné než české provenience jsme neměly k dispozici.

Dosud uvedené publikace byly zaměřeny výhradně na nitromusk a polycyklické musk sloučeniny. Například v jedné z publikací bylo zjištěno, že nejvyšší účinnosti při odstranění bylo dosaženo u musk ambrette (99,9 %), dále u musk xyleny (77,9 %) a tonalidu (66,0 %); nejnižší účinnost byla vypočtena pro phantolid (37,6 %) a musk keton (39,0 %) [21]. Podrobná studie, rovněž řešící problematiku nitromusk sloučenin a polycyklických musk sloučenin, byla zpracována v Texasu, v USA. Detekovány zde byly galaxolid, tonalid a cashmeran. Po vyčištění došlo u těchto analytů ke snížení koncentrace na odtoku z ČOV; tato práce však nebyla hodnocena z hlediska účinnosti čistícího procesu [102]. V jiných publikacích byla zase řešena možnost metabolizace musk xyleny a musk ketonu a byly porovnávány koncentrace původního analytu a jeho metabolitů. Toto je velmi důležitý poznatek, protože snížení koncentrace původní látky může souviset právě s metabolizací; v této studii se to však týkalo jiných vzorků z ekosystému, a to především sedimentu a vodní bioty. Z literatury je však známo, že v ČR došlo od roku 1990 k výraznému omezení aplikace musk xyleny a musk ketonu do komerčních výrobků kosmetických firem, stejně jako v ostatních státech EU. Proto nelze v dostupné literatuře najít více studií vhodných pro podobná porovnání [19]. Ve většině publikací bylo zjištěno, že hodnoty na odtoku z ČOV jsou vždy nižší [19, 21, 102, 101, 103].

Studie zaměřené na lineární musk sloučeniny byly v ČR řešeny komplexně pouze na naší fakultě, kde je tato problematika již dlouhodobě řešena v rámci diplomových a dizertačních prací [105, 87, 29, 28, 104]. Ve své diplomové práci jsem na výsledky prezentované v těchto pracích navázala. Ve dvou pracích [29] byla hodnocena koncentrace linaloolu, arosetu, arofloronu, lilialu a isoamyl salicylátu v odpadní vodě z ČOV Brno - Modřice. Pokud porovnáme výsledky v nich uvedené s mými výsledky je zřejmé, že u některých analytů došlo k nesignifikantnímu snížení u linaloolu, arosetu a arofloronu, zatímco koncentrace u ostatních analytů byly srovnatelné. V této práci byla rovněž posuzována účinnost a bylo zjištěno, že došlo k vyšší eliminaci sledovaných analytů z odpadní vody. V další souborné studii byla posuzována voda z ČOV situované na Veterinární a farmaceutické univerzitě Brno [28, 104]. Jejich práce byla zaměřena na stanovení těchto analytů: 2-cyklohexylethanol, citronellool, isobornyl acetát, dihydromyrcenol, cyklohexylethyl acetát, arofir, fresco menthe a cyclacet/jasmocyclen. V první studii byla prokázána vyšší úroveň kontaminace, v porovnání s mými výsledky, zatímco u posledních čtyř deklarovaných analytů byly zjištěny nižší koncentrace, než v případě mých výsledků. Toto porovnání však lze považovat pouze za orientační, protože se jednalo o ČOV s odlišnou technologií čištění odpadních vod.

Jiné porovnání nebylo možné provést, z již výše specifikovaných důvodů. Přesto však zastávám názor, že je nezbytné se danou problematikou podrobněji zabývat, protože spotřeba všech syntetických musk sloučenin, včetně lineárních, se stále zvyšuje.

5. ZÁVĚR

Předložená diplomová práce se zabývá problematikou výskytu syntetických lineárních musk sloučenin v odpadní vodě. Tyto látky se používají k aromatizaci nejrůznějších produktů osobní péče, parfémů, mýdel apod. Jejich používáním se dostávají do odpadní vody, odkud pronikají do všech složek životního prostředí, zejména však do vodního ekosystému.

Cílem diplomové práce bylo optimalizovat vhodný postup pro stanovení vybraných zástupců lineárních musk sloučenin (linalool, 2-cyklohexylethanol, fresco menthe, citronellol, HSA, isobornyl acetát, aroacet, aroflorone, allyl cyklohexyl propionát, lilial, isoamyl salicylát a hexylcinnamic aldehyd) izolovaných z odpadní vody. Pro izolaci sledovaných látek byla použita metoda mikroextrakce na tuhou fázi (SPME), pro identifikaci a kvantifikaci plynová chromatografie s hmotnostní detekcí s analyzátozem doby letu (GC/MS-TOF).

Vzorky odpadní vody byly odebírány ze třech čistíren odpadních vod v Jihomoravském kraji a to z ČOV Brno-Modřice, ČOV Hodonín a ČOV Luhačovice. Z ČOV Luhačovice a ČOV Hodonín byly vzorky odebrány 1x, a to vždy 24 hodinové slévané vzorky na přítoku a odtoku z ČOV. Vzorky z ČOV v Brně-Modřicích byly odebírány v rámci pilotní studie a následně po dobu jednoho týdne.

Koncentrace sledovaných musk sloučenin se v odpadní vodě pohybovala v řádech jednotek až setin $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$. Nejvyšších koncentrací dosahoval ve všech vybraných ČOV linalool a citronellol. Naopak HSA nebylo detekováno ani v jedné z ČOV. Vzhledem k tomu, že během technologického procesu docházelo v čistírnách odpadních vod pouze k částečnému odstranění sledovaných látek z odpadní vody, byly koncentrace na přítoku vyšší, než na odtoku z ČOV. Účinnost čistícího procesu se pohybovala v rozmezí 69,45 – 96,71 %.

Zároveň bylo také sledováno, zda odpadní voda z ČOV Brno-Modřice, která je vypouštěna do řeky Svratky, kontaminuje vodu řeky Svratky. Místa odběru z řeky byla zvolena následovně: 1 km před ČOV, 1 km za ČOV a přímo na výtoku odpadní vody z ČOV do řeky. Nejvyšší koncentrace byly prokázány přímo na výtoku z ČOV. I když jsou tyto koncentrace velmi nízké, naměřená data potvrdila, že ke kontaminaci povrchových vod v důsledku vypouštění odpadní vody do povrchové vody dochází.

V další části této práce byly výsledné koncentrace lineárních musk sloučenin porovnány s pilotní studií zaměřenou na zjištění obsahu lineárních musk sloučenin v produktech osobní péče, která byla začátkem roku 2014 na FCH VUT v Brně prováděna. Toto porovnání potvrdilo předpokládanou domněnku, že lineární musk sloučeniny se do odpadních vod dostávají primárně používáním produktů osobní péče, které jsou nejčastějším zdrojem kontaminace.

Závěrem byly námi generované výsledky porovnány s údaji publikovanými v dostupné literatuře. Bylo konstatováno, že o této skupině lineárních musk sloučenin neexistuje mnoho údajů, podrobnější studie byly prozatím publikovány pouze v ČR, a to na FCH VUT v Brně.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ROSYPAL, Stanislav. *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2003, 797 s. ISBN 80-718-3268-5.
- [2] SINĚLNÍKOV, R. D. a kolektiv. *Atlas anatomie člověka. Svazek III*. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1965. 399 s.
- [3] GÁLOVÁ, Dana, Taťána DIMITROVÁ a Marta MORAVCOVÁ. *Parfémy století: svět vůní, flakonů a značek*. Vyd. 1. Praha: Knižní klub, 2000, 204 s. ISBN 80-720-2774-3.
- [4] Smyslové orgány. *Náš člověk* [online]. [cit. 2014-01-03]. Dostupné z: <http://smyslove-organy.nasclovek.cz/>
- [5] Jak vnímáme vůně. *Parfemista* [online]. 2008 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: <http://www.parfemista.cz/jak-vnimame-vune.htm>
- [6] Pachy, vůně, čenichy. *Planeta zvířat* [online]. leden 2006 [cit. 2014-01-03]. Dostupné z: <http://casopis.planetazvirat.cz/060112-pachy-vune-cenichy-1.html>
- [7] Animals with the best sense of smell in the world. *Largest Fastest Smartest* [online]. [cit. 2014-01-03]. Dostupné z: <http://largestfastestsmartest.co.uk/animals-with-the-best-sense-of-smell-in-the-world/>
- [8] Svět v číslech. *Všude dobře, tak co doma?* [online]. 2014 [cit. 2014-01-03]. Dostupné z: <http://www.vsudedobre.cz/svetvcislech-faunaafloa/>
- [9] TREP KOVÁ, Emilie a František VONÁŠEK. *Vůně a parfémy: tajemství přitažlivosti*. Praha: Maxdorf, 1997, 173 s. ISBN 80-858-0048-9.
- [10] Čich. *Lidské smysly* [online]. [cit. 2014-01-03]. Dostupné z: <http://www.lidske-smysly.wbs.cz/Cich.html>
- [11] Jacobsonův orgán. *Moje biologie* [online]. 13. 01. 2009 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: <http://www.mojebiologie.cz/mediawiki/index.php/Plazi>
- [12] Čich. *Smyslová soustava* [online]. 2014 [cit. 2014-01-03]. Dostupné z: <http://www.latinsky.estranky.cz/fotoalbum/smyslova-soustava/smyslova-soustava/cich.png.html>
- [13] Historie parfémů. *Vůně a parfémy* [online]. 2011 [cit. 2014-01-06]. Dostupné z: http://www.vuneaparfemy.com/clanky/historie-parfemu/Parfémy_a_jejich_historie. *Europarfémy* [online]. 2014 [cit. 2014-01-06]. Dostupné z: <http://www.europarfemy.cz/clanky/parfemy-a-jejich-historie/>
- [14] Historie parfémů. *Parfemista* [online]. 2008 [cit. 2014-01-03]. Dostupné z: <http://www.parfemista.cz/historie-parfemu.htm>
- [15] PEHLE, Tobias a Sylvia JONAS. *Parfém*. 1. vyd. Čestlice: Rebo, 2009, 295 s. ISBN 978-80-255-0050-7.
- [16] GROOM, Nigel. *Průvodce parfémy: příručka pro znalce*. 1. vyd. Praha: Fortuna Print, 2000, 192 s. ISBN 80-861-4455-0.

- [17] Vůně, tajemná duše rostlin. *Akropolis* [online]. 2013 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: <http://www.akropolis.cz/default.asp?page=document&4=10000402>
- [18] ČERVENÝ, Libor. Syntetické vonné a chuťové látky. In: *Chemické listy* [online]. 1999. č. 98, s. 412-420 [cit. 2014-04-26]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_07_412-420.pdf
- [19] RIMKUS, G. G, R. GATERMANN a H. HÜHNERFUSS. Musk xylene and musk ketone amino metabolites in the aquatic environment. *Toxicology Letters*. 1999, vol. 111, 1-2, s. 5-15. DOI: 10.1016/S0378-4274(99)00190-3. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427499001903>
- [20] HLAVA, Bohumír a František STARÝ. *Rostliny v kosmetice*. Praha: Artia, 1987, 240 s. ISBN 59-024-81.
- [21] VÁVROVÁ, Milada, Kristýna KUBÍČKOVÁ, Libor ZOUHAR, Ludmila MRAVCOVÁ a Josef ČÁSLAVSKÝ. Syntetické vonné látky a jejich stanovení ve vodním ekosystému. *Chemické listy* [online]. 2010, č. 104, s. 618-622 [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_06_618-622.pdf
- [22] Musk xylene and musk ketone. *European Commission* [online]. 25. 04. 2004 [cit. 2014-01-09]. Dostupné z: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out280_en.pdf
- [23] Galaxolide. *Chemical Book* [online]. 2010 [cit. 2014-01-12]. Dostupné z: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB1706143.htm
- [24] Muscone. *Santa Cruz Biotechnology* [online]. 2014 [cit. 2014-01-12]. Dostupné z: <http://www.scbt.com/datasheet-200528-muscone.html>
- [25] Romandolide. *China perfumer* [online]. 2014 [cit. 2014-01-12]. Dostupné z: http://www.chinaperfumer.com/seminar/Firmenich2011/datasheet_romandolide_979031.pdf
- [26] KALLENBORN, Roland, Robert GATERMANN, Sissel PLANTING, Gerhard G. RIMKUS, Margrete LUND, Martin SCHLABACH a Ivan C. BURKOW. Gas chromatographic determination of synthetic musk compounds in Norwegian air samples. *Journal of Chromatography A*. 1999, vol. 846, 1-2, s. 295-306. DOI: 10.1016/S0021-9673(99)00259-9. Dostupné z: http://www.researchgate.net/publication/222476304_Gas_chromatographic_determination_of_synthetic_musk_compounds_in_Norwegian_air_samples/file/d912f508937ee68c78.pdf.
- [27] RIMKUS, Gerhard G. Polycyclic musk fragrances in the aquatic environment. *Toxicology Letters*. 1999, vol. 111, 1-2, s. 37-56. DOI: 10.1016/S0378-4274(99)00191-5. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427499001915>
- [28] ŠTEFKA, Michal. *Stanovení syntetických vonných látek v odpadních vodách*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2012. 83 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

- [29] ZOUHAR, Libor. *Syntetické vonné látky ve vodní biotě*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2009. 95 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
- [30] KRAFT, Philip. 'Brain Aided' Musk Design. *Chemistry & Biodiversity*. 2004, vol. 1, issue 12, s. 1957-1974. DOI: 10.1002/cbdv.200490150. Dostupné z:<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.200490150/pdf>.
- [31] Linalool. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13849981.html>
- [32] Linalool. *Sigma-Aldrich* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/l2602?lang=en®ion=CZ>
- [33] 2-cyklohecyethanol. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.19315.html?rid=d22b1719-7599-4cf5-9ec3-173d927b7b19>
- [34] 2-cyklohexyethanol. *Sigma-Aldrich* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/c105104?lang=en®ion=CZ>
- [35] Fresco menthe. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.55659.html?rid=36891757-3af2-4520-aa23-b9503b72a3ae>
- [36] Citronellol. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13850135.html?rid=ef7e40db-7d02-476e-a2fe-1f43180fd895>
- [37] HSA. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13871718.html?rid=0408d0a6-aa28-4847-bf59-da93f82bc2db>
- [38] Isobornyl acetate. *Sigma-Aldrich* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w216003?lang=en®ion=CZ>
- [39] Isobornyl acetate. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5323219.html>
- [40] Arocet. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.33188.html>
- [41] Aroflorone. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.15824.html>
- [42] Allyl cyklohexyl propionate. *Chemical Book* [online]. 2010 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB5153752.htm
- [43] Allyl cyklohexyl propionat. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.16654.html>
- [44] Lilial. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z:<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.199342.html?rid=e5302de0-3278-4ce1-88b0-4b050276e536>

- [45] Isoamyl salicylate. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6612.html>
- [46] Hexylcinnamic aldehyde. *Chem Spider* [online]. 2014 [cit. 2014-02-01]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.1267362.html>
- [47] Syntetický musk. In: *Asset Panda* [online]. 2005 [cit. 2014-02-06]. Dostupné z: http://assets.panda.org/downloads/fact_sheet___synthetic_musks_food.pdf
- [48] FCH VUT BRNO. *Praktikum z environmentální analýzy: Analýza těkavých organických látek metodou SPME – GC/MS*. Brno, 2012.
- [49] PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 4. aktualiz. vyd. Praha: VŠCHT, 2009, 579 s. ISBN 978-80-7080-701-9.
- [50] HAJŠLOVÁ J., KOCOUREK, V., VOLKA, K., SUCHÁNEK, M., BÖHM, S., SKÁCEL, F., TOMANIOVÁ, M., RADOVÁ, Z., HOLADOVÁ, K., POUSTKA, J. a SUCHAN, P. Přehled aktivit realizovaných v rámci projektu MŽP „Monitoring cizorodých látek v potravních řetězcích v ČR“, výstupy vybraných pilotních studií. In *Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech: Sborník příspěvků ze XIV. semináře s mezinárodní účastí, Praha 12. - 14. Zář 2001*. Praha: Ústav chemie a analýzy potravin VŠCHT, Česká společnost chemická, 2001, s. 12 - 33. ISBN 80-7080-472-6.
Dostupné z: http://www.vscht.cz/zkp/ustav/Sbornik_kontaminanty.pdf
- [51] KOCOUREK, V., L. ŠETKOVÁ a J. HAJŠLOVÁ. *Sledování lipofilních kontaminantů ve vybraných profilech Labe a Vltavy technikou SPMD* [online]. VŠCHT Praha, 2001 [cit. 2014-02-06]. s. 98 – 105. ISBN 80-7080-472-6. Dostupné z: http://www.vscht.cz/zkp/ustav/Sbornik_kontaminanty.pdf
- [52] Musk xylene and other musks: Hazardous Substances Series. *OSPAR* [online]. 2004, č. 1, s. 1 - 45 [cit. 2014-02-11]. Dostupné z: http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00200_BD%20on%20musk%20xylene.pdf
- [53] Vyhláška Ministerstva životního prostředí o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. *MŽP ČR* [online]. 2014 [cit. 2014-02-11]. Dostupné z: <http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/d79c09c54250df0dc1256e8900296e32/384b1f568b108495c12570060046ea82?OpenDocument>
- [54] HERREN, D. a J.D. BERSET. Nitro musks, nitro musk amino metabolites and polycyclic musks in sewage sludges. *Chemosphere*. 2000, vol. 40, issue 5, s. 565-574. DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00325-2. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653599003252>.
- [55] HOLOUBEK, Ivan. RECETOX, Masarykova Univerzita. *Analýza rizik: Základní pojmy a definice*. Brno, 2011
- [56] Linalool. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-11]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1007872.html>
- [57] 2-cyklohexylethanol. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16].
Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1016012.html>

- [58] Fresco menthe. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16].
Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1001541.html>
- [59] Citronellol. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1007032.html>
- [60] HSA. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1010172.html>
- [61] Isobornyl acetate. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16].
Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1006792.html>
- [62] Arocet. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1002462.html>
- [63] Aroforone. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1003401.html>
- [64] Allyl cyklohexyl propionate. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16].
Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1000322.html>
- [65] Lilial. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1008612.html>
- [66] Isoamyl salicylate. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16].
Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1006772.html>
- [67] Hexylcinnamic aldehyde. *The Good Scents Company Information System* [online]. 2014 [cit. 2014-02-16]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1005972.html>
- [68] HOLOUBEK, Ivan. RECETOX, Marasykova Univerzita. *Chemie životního prostředí I: Chemické látky v prostředí – základní definice a pojmy*. Brno, 2011
- [69] GATERMANN, Robert, Heinrich HÜHNERFUSS, Gerhard RIMKUS, A. ATTAR a A. KETTRUP. Occurrence of musk xylene and musk ketone metabolites in the aquatic environment. *Chemosphere*. 1998, vol. 36, issue 11, s. 2535-2547. DOI: 10.1016/S0045-6535(97)10208-9. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653597102089>
- [70] BALK, Froukje a Richard A. FORD. Environmental risk assessment for the polycyclic musks AHTN and HHCB in the EU. *Toxicology Letters*. 1999, vol. 111, 1-2, s. 57-79. DOI: 10.1016/S0378-4274(99)00169-1. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427499001691>
- [71] HU, Zhengjun, Yali SHI, Shengxiao ZHANG, Hongyun NIU a Yaqi CAI. Assessment of Synthetic Musk Fragrances in Seven Wastewater Treatment Plants of Beijing, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2011, vol. 86, issue 3, s. 302-306. DOI: 10.1007/s00128-011-0215-1. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00128-011-0215-1>

- [72] DOHÁNYOS, Michal, Jan KOLLER a Nina STRNADOVÁ. *Čištění odpadních vod*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 2007, iv, 177 s. ISBN 978-80-7080-619-7.
- [73] VÁVROVÁ, Milada. FCH VUT BRNO. *Základy environmentálního vzorkování: Přednáška 1 a 2*. Brno, 2013
- [74] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Analytické metody technické praxe: Přednáška 1*. Brno, 2013
- [75] Mikroextrakce tuhou fází. In: *Sigma-Aldrich* [online]. 2011 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: www.sigmaaldrich.com/img/assets/15720/11.pdf
- [76] Selection Guide for Supelco SPME Fibers. *Sigma-Aldrich* [online]. 2014 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/sample-preparation/spme/selecting-spme-fiber.html>
- [77] ŠTULÍK, Karel a kol. *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004, 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [78] Úvod do plynové chromatografie. *Cheminfo* [online]. [cit. 2014-02-27]. Dostupné z: http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf
- [79] VOLKA, Karel. *Analytická chemie II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1995, 236 s. ISBN 80-708-0227-8.
- [80] Plynová chromatografie. In: *Linde Gas a.s.* [online]. 2009 [cit. 2014-02-27]. Dostupné z: http://www.linde-gas.cz/internet.lg.lg.cze/cs/images/PlynovaChromatogr_4_6_200979_15729.pdf
- [81] Faculty of Health and Wellbeing (Sheffield Hallam University). *Gas chromatography* [online]. [cit. 2013-03-01]. Dostupné z: <http://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/chrom/gaschr.htm>
- [82] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Chromatografie: Přednáška 1*. Brno, 2012.
- [83] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Chromatografie: Přednáška 4 – Plynová chromatografie*. Brno, 2012.
- [84] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Instrumentální a strukturní analýza: Přednáška 2 – Plynová chromatografie*. Brno, 2012.
- [85] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek*. 1. Vyd. Praha: SNTL, 1990, 384 s. ISBN 80-030-0569-8.
- [86] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Hmotnostní spektrometrie: Přednáška 1 – Úvod*. Brno, 2012.
- [87] TYLICOVÁ, Petra. *Syntetické vonné látky v odpadních vodách*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2011. 88 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
- [88] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Hmotnostní spektrometrie: Přednáška 2 – Ionizační techniky*. Brno, 2012.
- [89] HOLČAPEK, Michal. Mass Spectrometry Group @ University of Pardubice. *Hmotnostní spektrometrie v organické analýze: Ionizační techniky*. Pardubice, 2014.

- [90] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Hmotnostní spektrometrie: Přednáška 3 – Analyzátoři*. Brno, 2012.
- [91] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Instrumentální a strukturní analýza: Přednáška 7 – Hmotnostní spektrometrie I*. Brno, 2012
- [92] ČÁSLAVSKÝ, Josef. FCH VUT BRNO. *Hmotnostní spektrometrie: Přednáška 5 – Vakuové systémy*. Brno, 2012.
- [93] Leco Pegasus 4D GCxGC-TOFMS. *Biotechnology Center* [online]. 2014 [cit. 2014-03-07]. Dostupné z: <https://www.biotech.wisc.edu/services/massspec/instrumentationoverview/GCxGC-TOFMS>
- [94] DOUŠA, Michal. *Hplc.cz: Mez detekce a mez stanovitelnosti* [online]. 2013 [cit. 2014-03-07]. Dostupné z: http://www.hplc.cz/Tip/lod_loq.htm
- [95] Validační program pro statistické zpracování analytických dat. In: *VŠCHT Praha: Ústav konzervace potravin* [online]. [cit. 2014-03-07]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/ana/validace.pdf
- [96] MEGA, Jaroslav. FCH VUT BRNO. *Zpracování experimentálních dat – ŽP: Přednáška 1*. Brno, 2010.
- [97] ČOV Brno - Modřice. *Brněnské vodárny a kanalizace, a.s.* [online]. 2014 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <http://www.bvk.cz/o-spolecnosti/odvadeni-a-cisteni-odpadnich-vod/cov-brno-modrice/>
- [98] Kanalizační řád pro statutární město Brno, město Kuřim, město Modřice, obce Česká a Želešice. In: *Brněnské vodárny a kanalizace, a.s.* [online]. Brno, 2011 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <http://www.bvk.cz/zakaznikum/podminky-dodavky-vody-a-odvadeni-vod-odpadnich/kanalizacni-rad-vcetne-mapovych-podkladu/>
- [99] Luhačovice - intenzifikace ČOV, výstavba a rekonstrukce kanalizace. In: *Povodí Moravy* [online]. 2014 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: http://www.pmo.cz/pop/2009/Morava/End/c-stav/listyopatreni/c4_06/1_program_opatreni/mo100084.pdf
- [100] Základní údaje. *Vodárny a kanalizace Hodonín, a.s.* [online]. 2014 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: http://www.vak-hod.cz/vak/?page_id=88
- [101] Kanalizační řád stokové sítě města Hodonín a obce Rohatec. In: *Vodárny a kanalizace Hodonín, a.s.* [online]. 2010 [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: http://www.vak-hod.cz/vak/vak/zakaznickeCentrum/kanalizacni_rady/KR_Hodonin_Rohatec.pdf
- [102] CHASE, Darcy A., Adcharee KARNJANAPIBOONWONG, Yu FANG, George P. COBB, Audra N. MORSE a Todd A. ANDERSON. Occurrence of synthetic musk fragrances in effluent and non-effluent impacted environments. *Science of The Total Environment*. 2012, vol. 416, s. 253-260. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2011.11.067. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969711013830>

- [103] CAVALHEIRO, J., A. PRIETO, M. MONPERRUS, N. ETXEBARRIA a O. ZULOAGA. Determination of polycyclic and nitro musks in environmental water samples by means of microextraction by packed sorbents coupled to large volume injection-gas chromatography–mass spectrometry analysis. *Analytica Chimica Acta*. 2013, vol. 773, s. 68-75. DOI: 10.1016/j.aca.2013.02.036. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267013002705>
- [104] KOMÁRKOVÁ, Petra, Milada VÁVROVÁ, Zuzana KRÁLOVÁ, Alice JÍROVÁ a Kateřina JÁROVÁ. *Využití mikroextrakce na tuhou fázi pro stanovení lineárních musk sloučenin* [online]. VFU Brno, 2013[cit. 2014-04-22]. Dostupné z: <http://fvhe.vfu.cz/export/sites/fvhe/konference/Sborniky/sbornik-IGA-2013.pdf>
- [105] MÁŠOVÁ, Michaela. *Stanovení vybraných "Musk" sloučenin v odpadních vodách*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 207. 71 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AFID	plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem
AHTN	tonalid
APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
APPI	fotoionizace za atmosférického tlaku
ArD	argonový detektor
B	magnetický analyzátor
BAF	bioakumulační faktor
BCF	biokoncentrační faktor
BSK ₅	biochemická spotřeba kyslíku
CAR TM	Carbowax TM
CAS	identifikační číslo sloučeniny podle „Chemical Abstracts Service“
CI	chemická ionizace
CW	Carbowax
ČOV	čistírna odpadních vod
ČSN	Česká technická norma
DVB	divinylbenzen
E	elektronový analyzátor
ECD	detektor elektronového záhytu
EI	elektronová ionizace
EN	Evropská norma
EO	ekvivalent obyvatel
ESI	elektrosprej
ETH	Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
FI	ionizace polem
FAB	ionizace urychlenými atomy
FIB	ionizace urychlenými ionty
FID	plamenový ionizační detektor
FTICR	iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací
GC	plynový chromatograf
HeD	heliový detektor
HHCB	galaxolid
HS	head-space
CHSK	chemická spotřeba kyslíku
ICP	indukčně vázané plasma
IT	iontová past
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistotu a užitou chemii
K _{ow}	rozdělovací koeficient n-oktanol / voda
LD ₅₀	smrtelná dávka pro 50 % testovaných jedinců
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
MALDI	ionizace laserem za účasti matrice
MK	musk keton
MQ	Milli-Q voda
MS	hmotnostní spektrometrie
MW	molekulová hmotnost
MX	musk xylen
MŽP ČR	Ministerstvo životního prostředí ČR

N _{celk}	celkový obsah dusíku
ND	nedetekováno (pod mezí detekce)
NL	nerozpuštěné látky
P _{celk}	celkový obsah fosforu
PA	polyakrylát
PDMS	polydimethylsiloxan
POPs	perzistentní organické polutanty
Q	kvadrupólový analyzátor
RSD	relativní směrodatná odchylka
SPME	mikroextrakce tuhou fází
TCD	tepelně-vodivostní detektor
TOF	analyzátor doby letu
TSI	termosprej
USA	Spojené státy americké
VUT	Vysoké učení technické v Brně

8. SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Hmotnostní spektra standardů

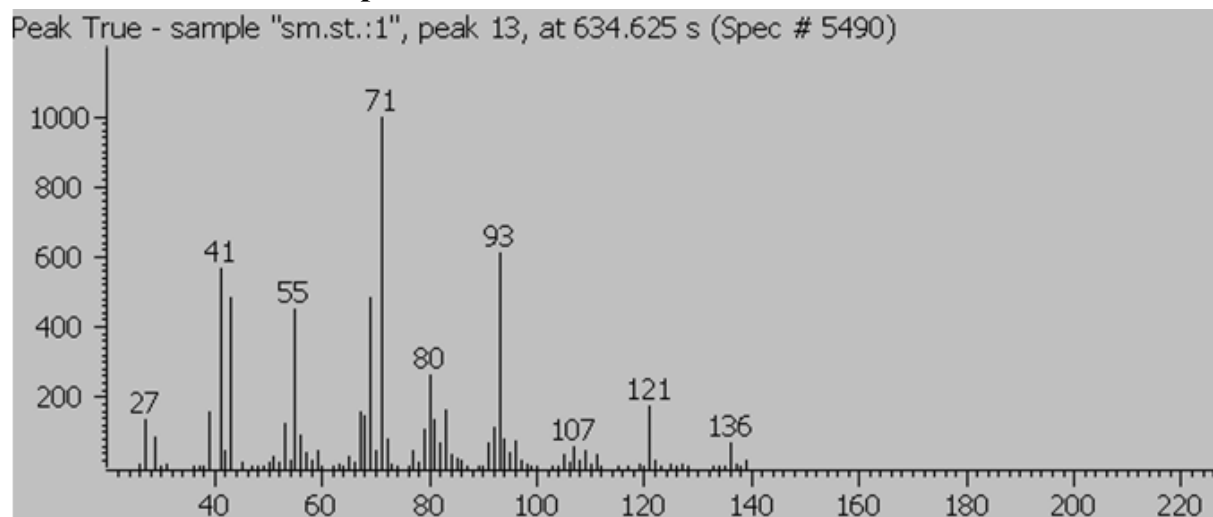
Příloha 2: Kalibrační křivky standardů

Příloha 3: Příklady vybraných chromatogramů reálných vzorků

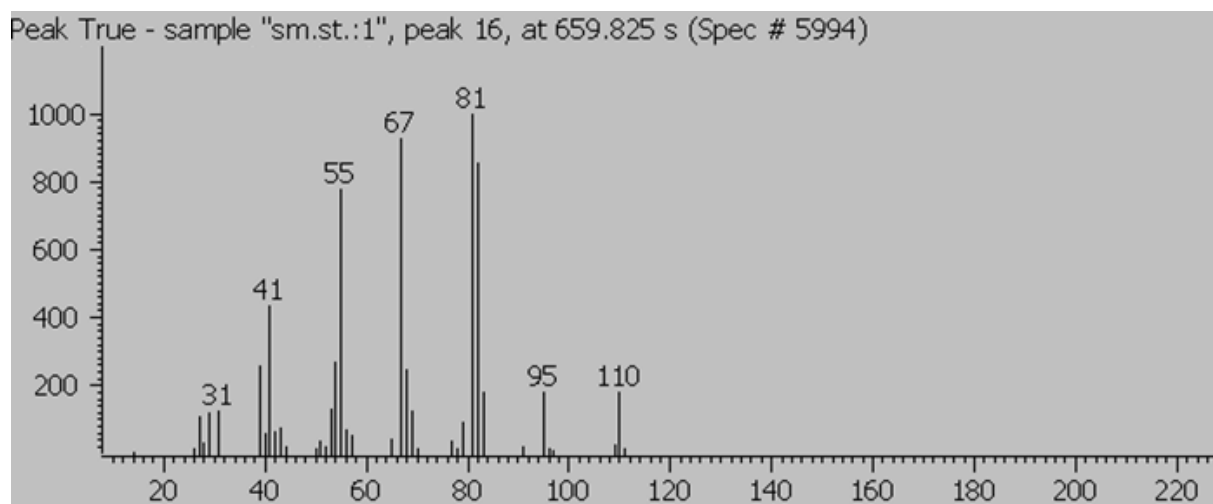
Příloha 4: Fotodokumentace

9. PŘÍLOHY

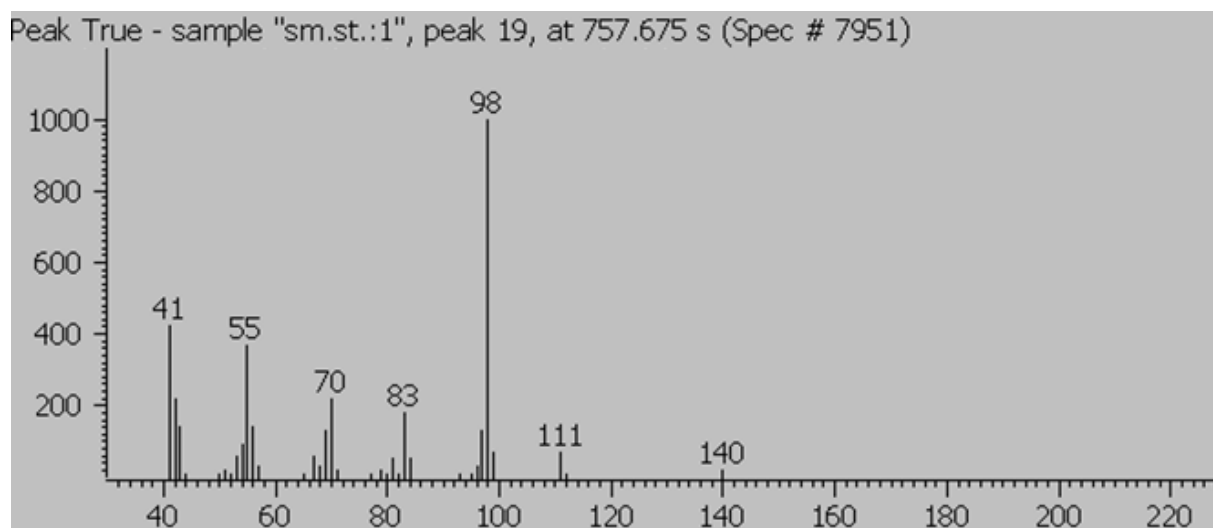
Příloha 1: Hmotnostní spektra standardů



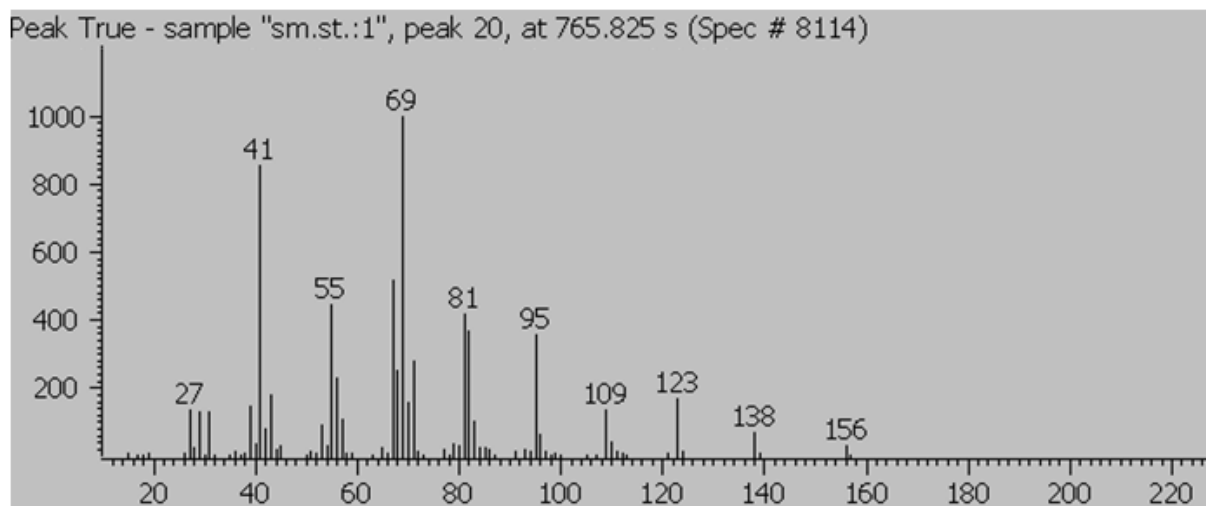
Obr. 33: Hmotnostní spektrum linaloolu



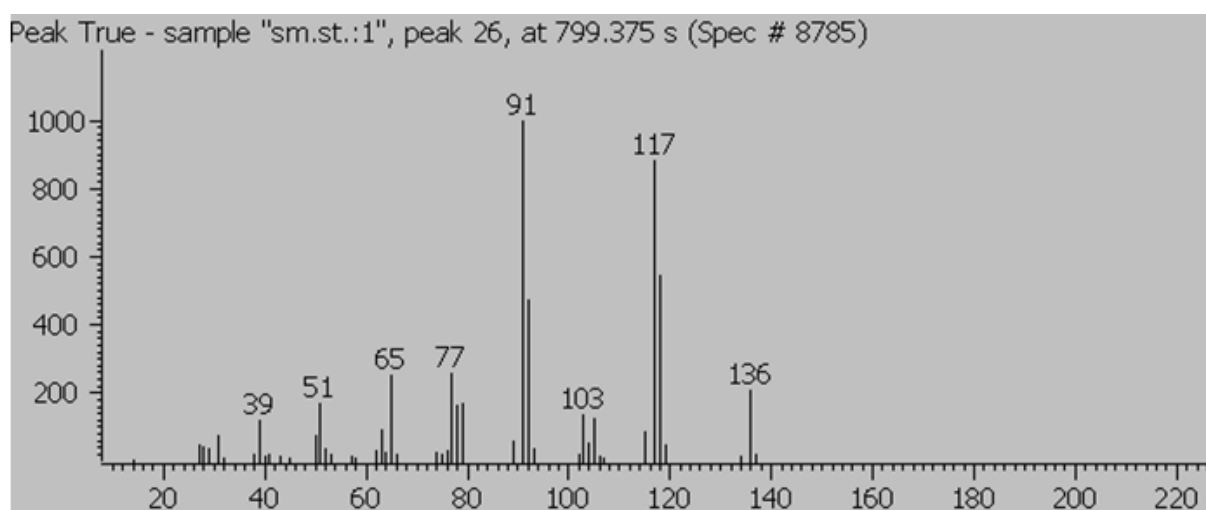
Obr. 34: Hmotnostní spektrum 2-cyklohexylethanolu



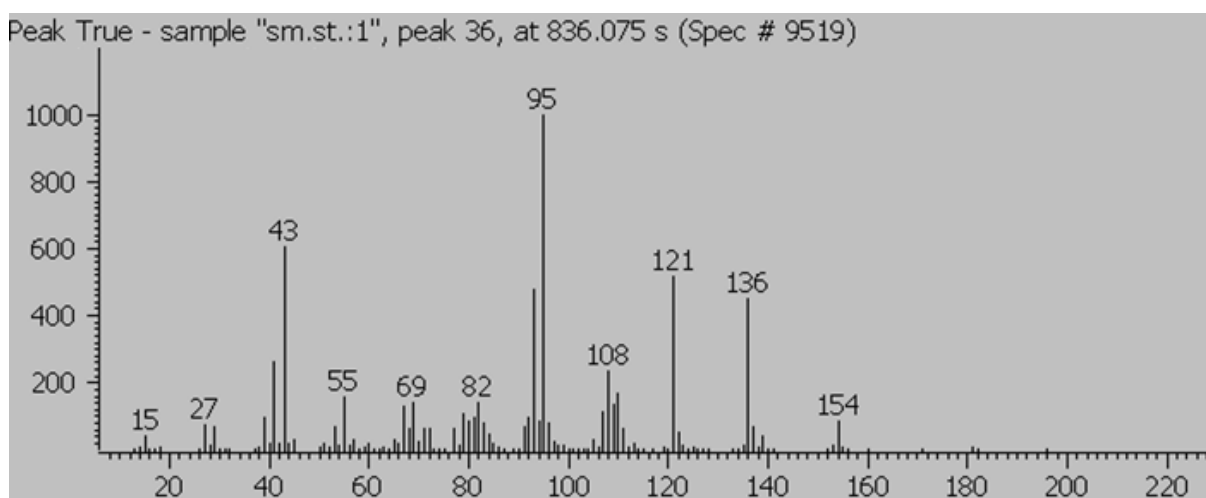
Obr. 35: Hmotnostní spektrum fresco menthe



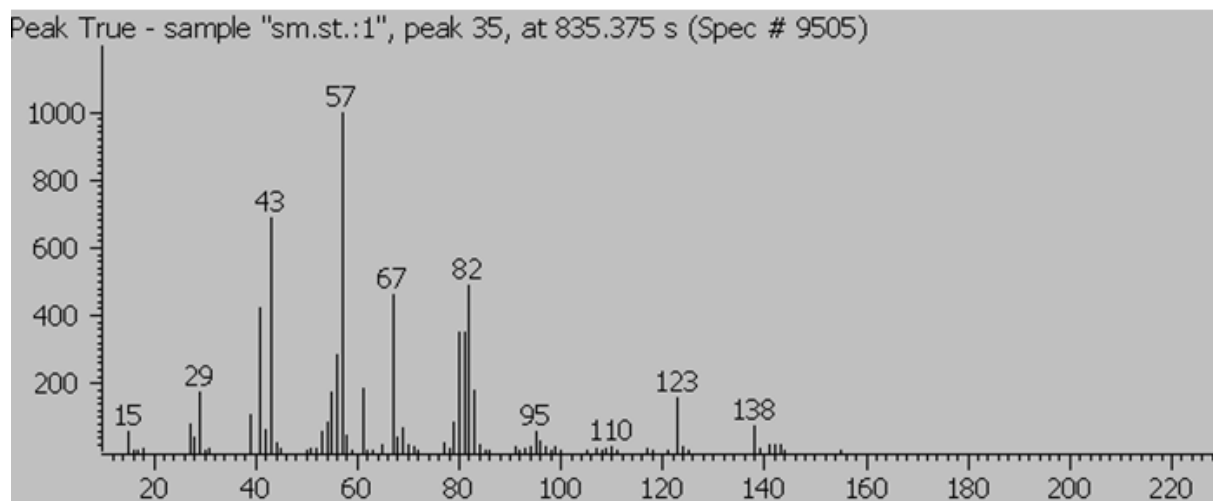
Obr. 36: Hmotnostní spektrum citronellolu



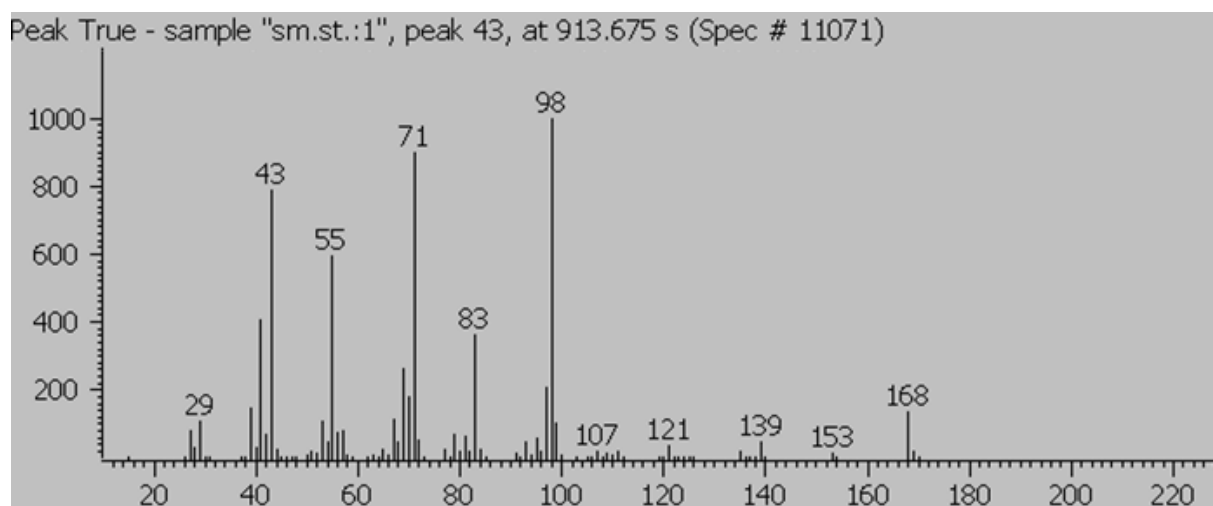
Obr. 37: Hmotnostní spektrum HSA



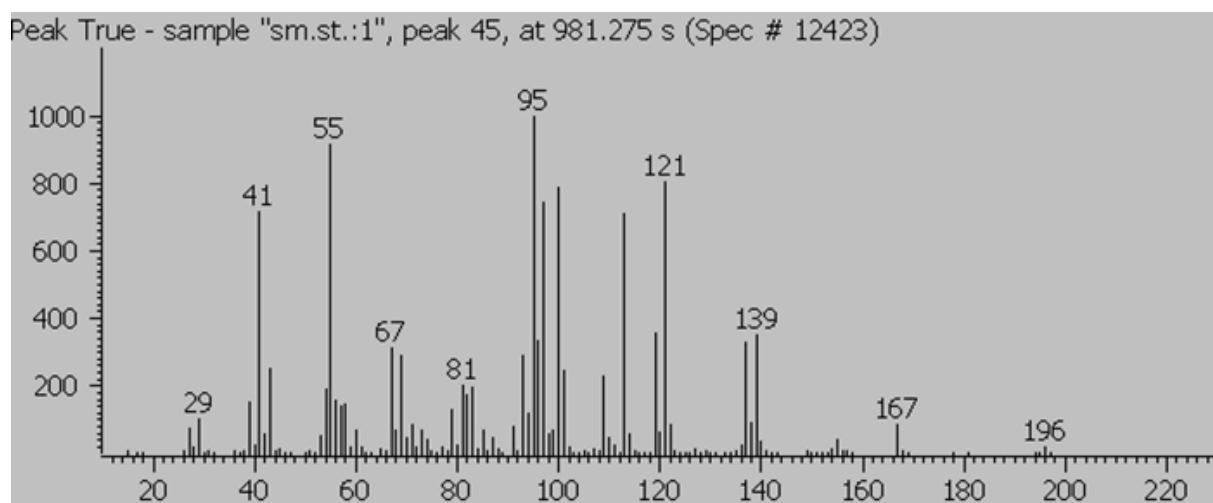
Obr. 38: Hmotnostní spektrum isobornyl acetátu



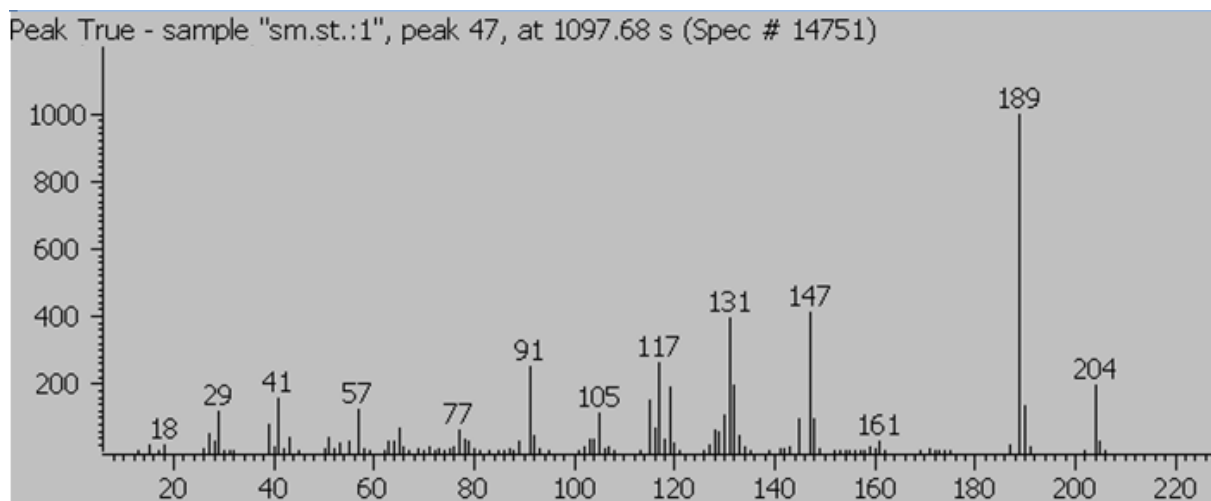
Obr. 39: Hmotnostní spektrum aroacetu



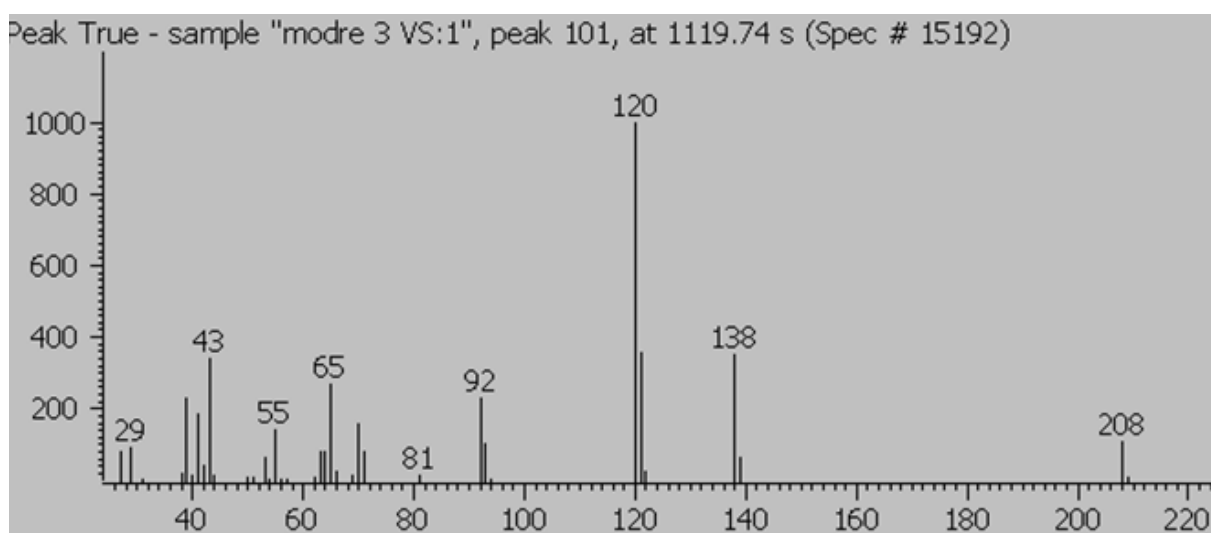
Obr. 40: Hmotnostní spektrum arofloronu



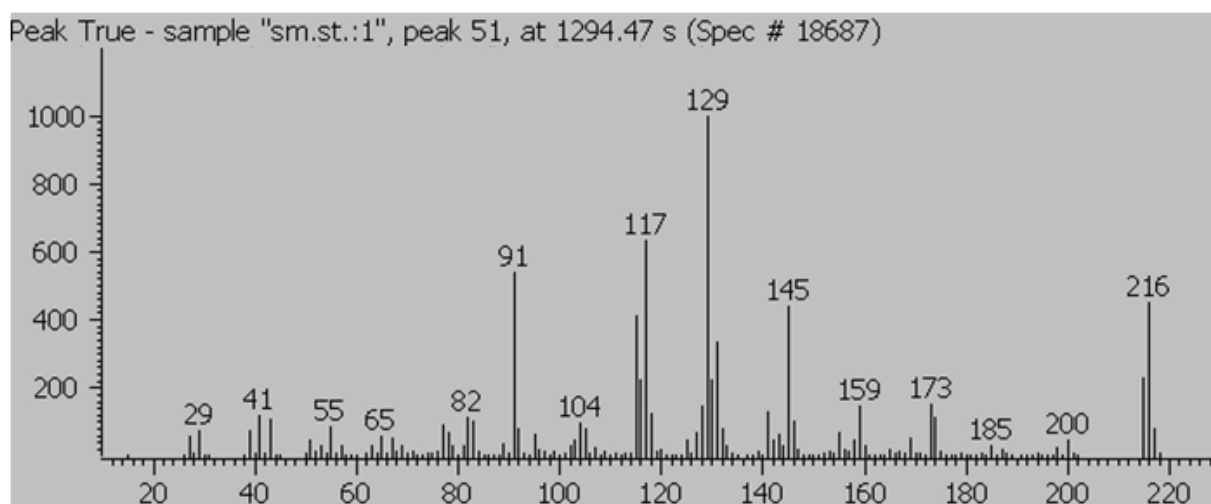
Obr. 41: Hmotnostní spektrum allyl cyklohexyl propionátu



Obr. 42: Hmotnostní spektrum lilialu

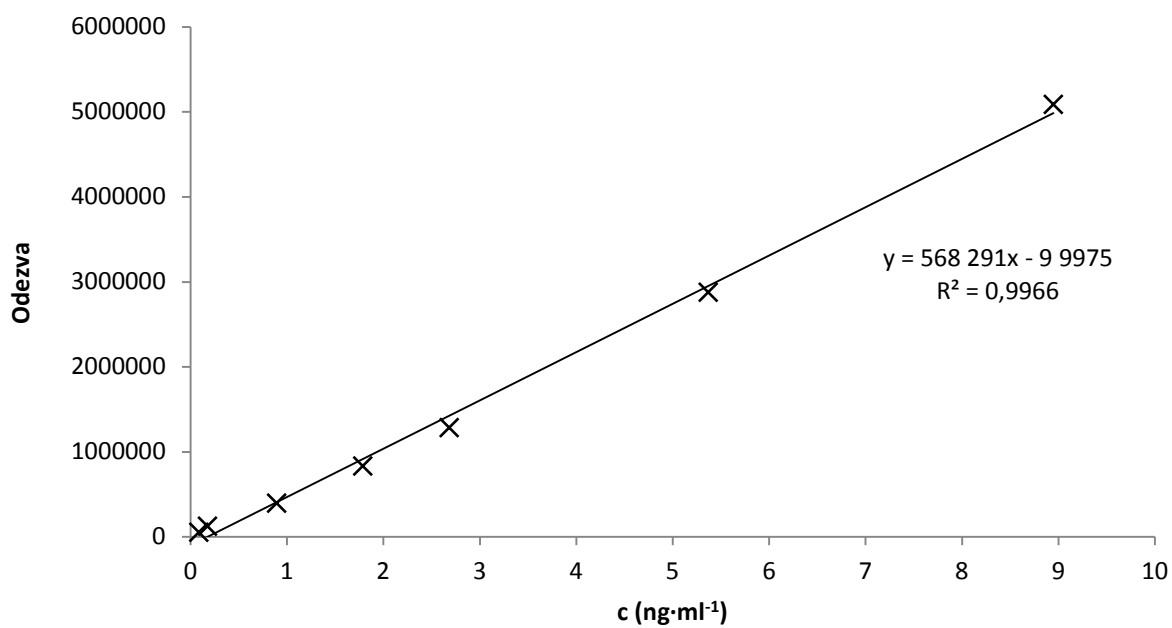


Obr. 43: Hmotnostní spektrum isoamyl salicylátu

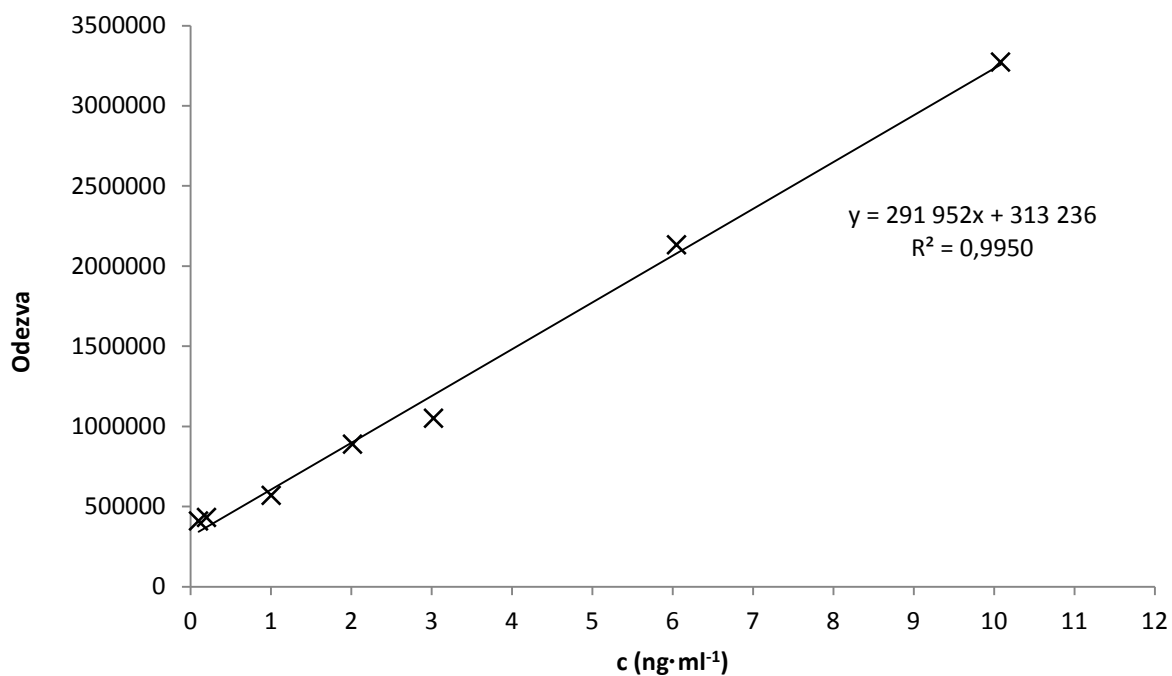


Obr. 44: Hmotnostní spektrum hexylcinnamic aldehydu

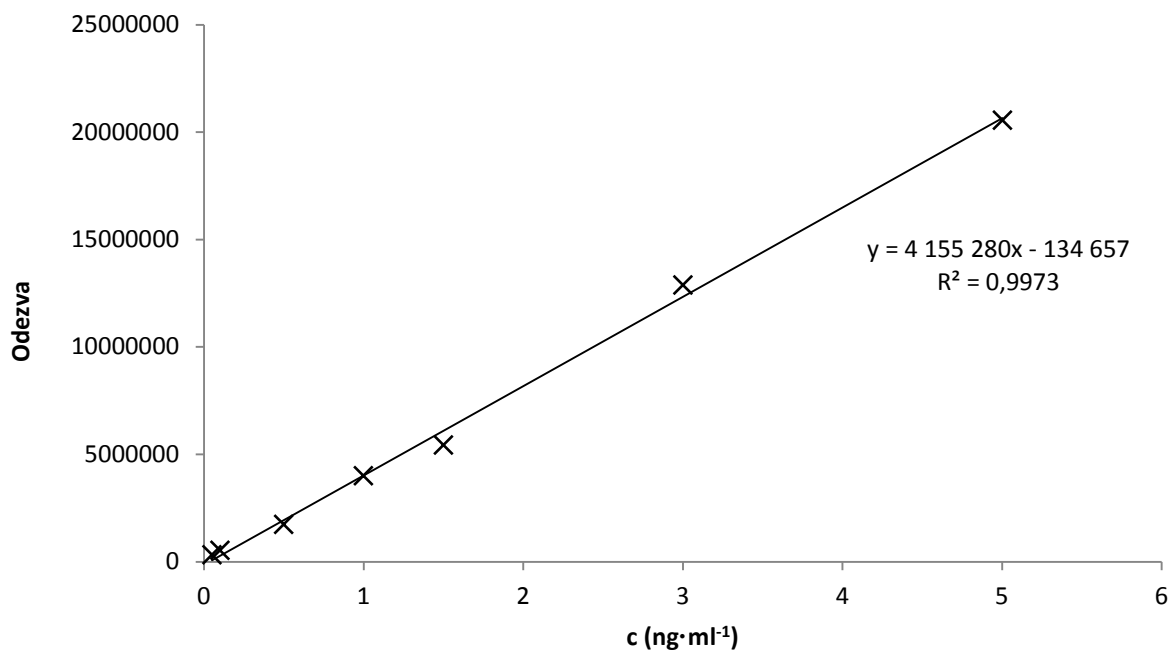
Příloha 2: Kalibrační křivky standardů



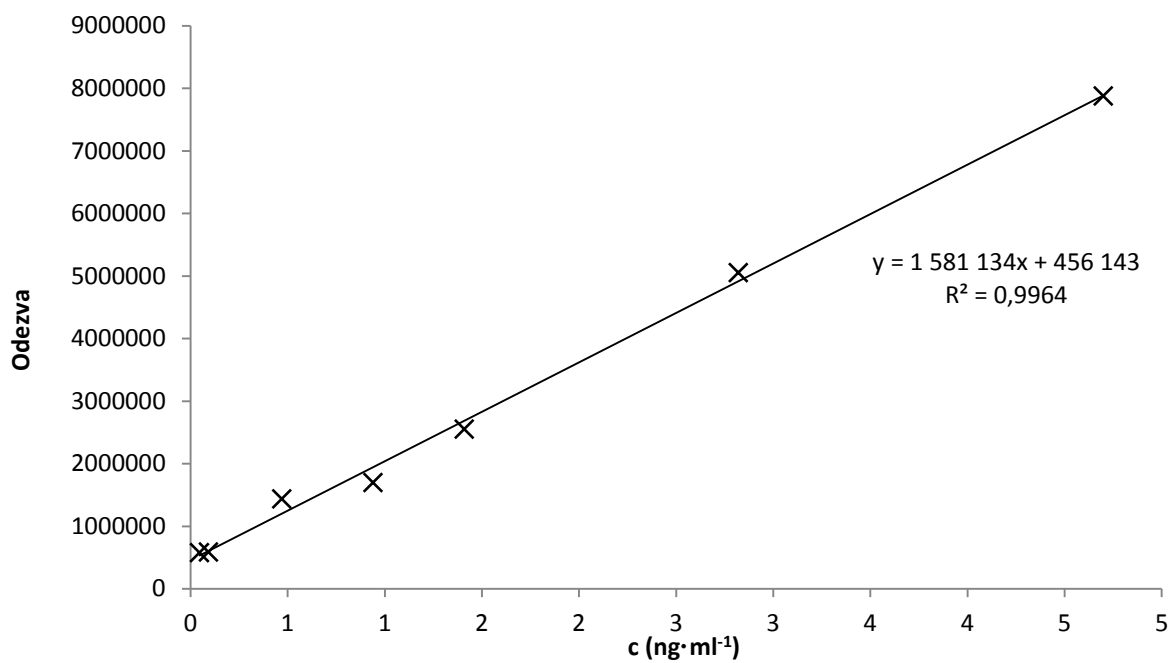
Graf 24: Kalibrační křivka linaloolu



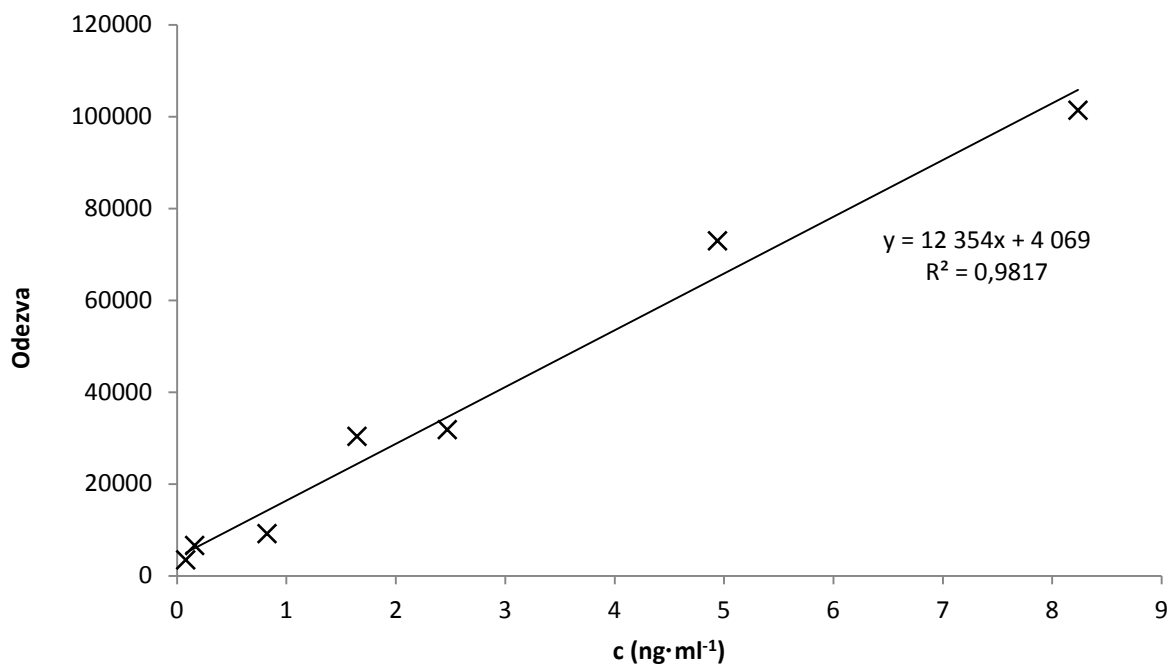
Graf 25: Kalibrační křivka 2-cyklohexylethanolu



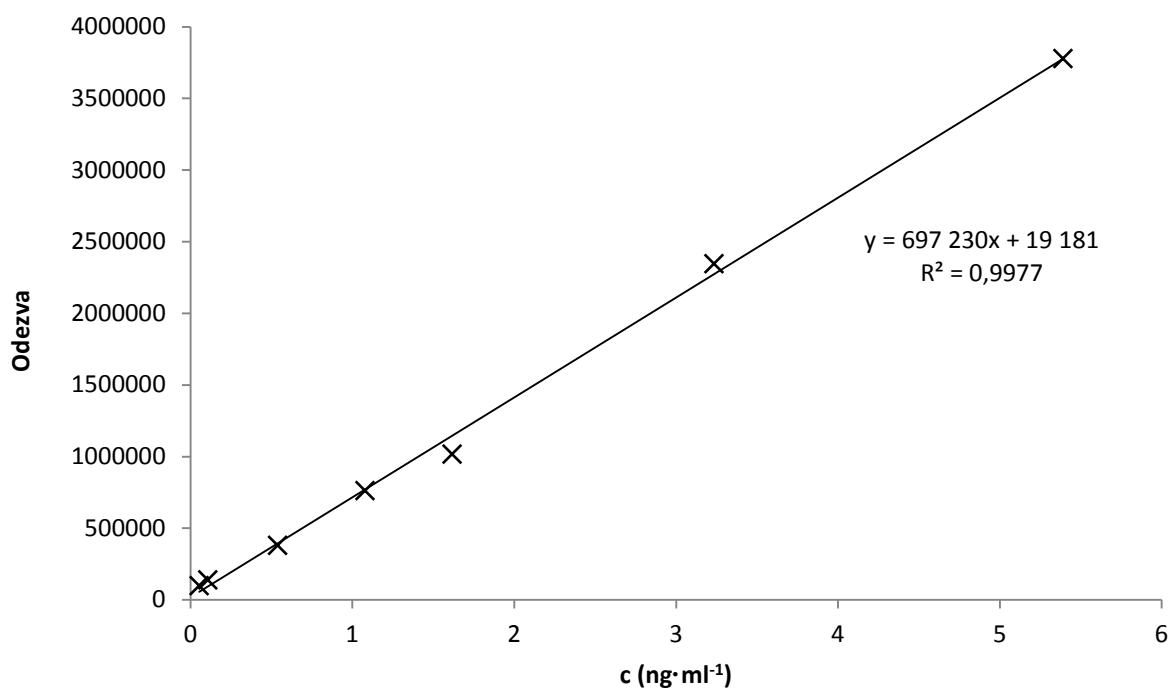
Graf 26: Kalibrační křivka fresco menthe



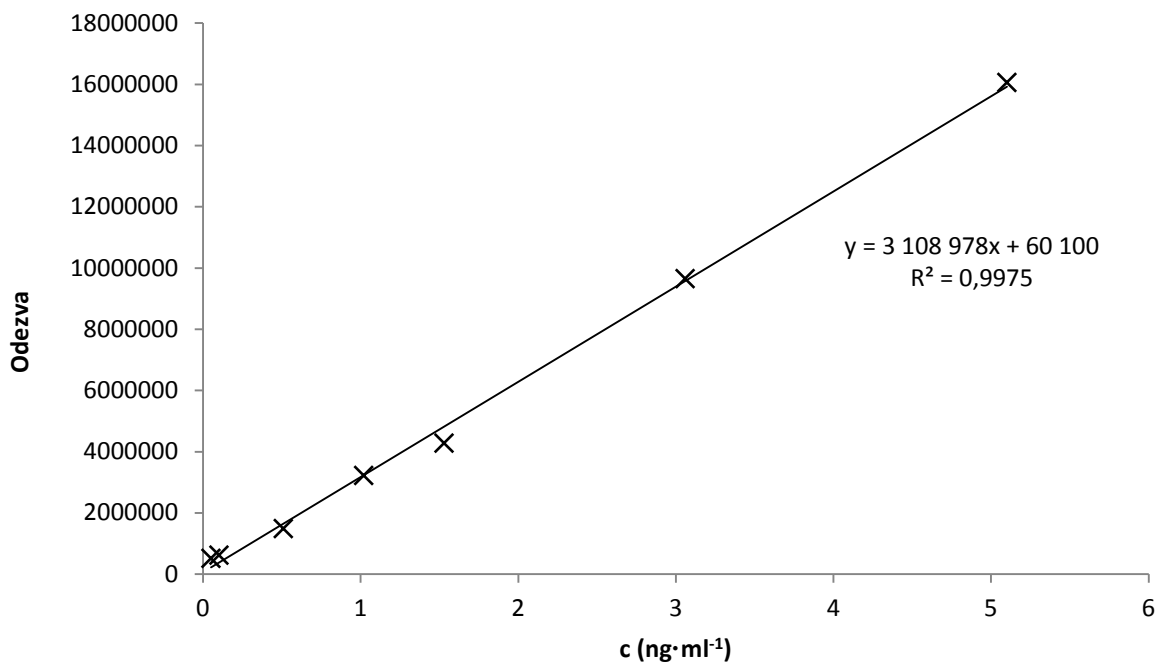
Graf 27: Kalibrační křivka citronellolu



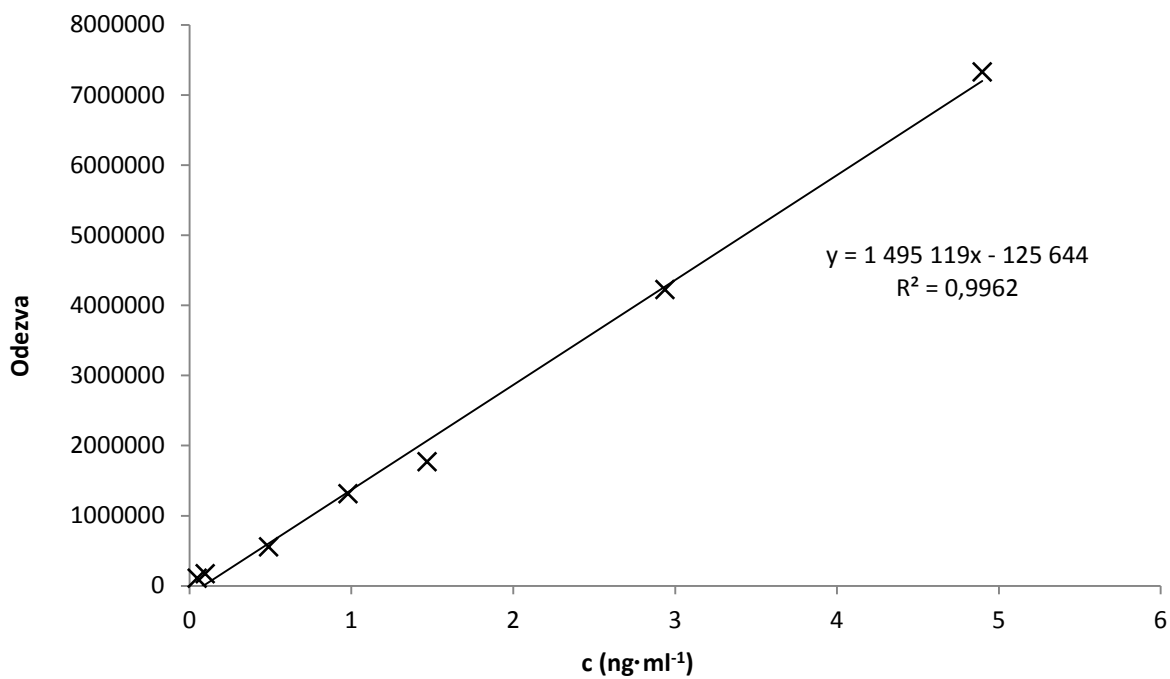
Graf 28: Kalibrační křivka HSA



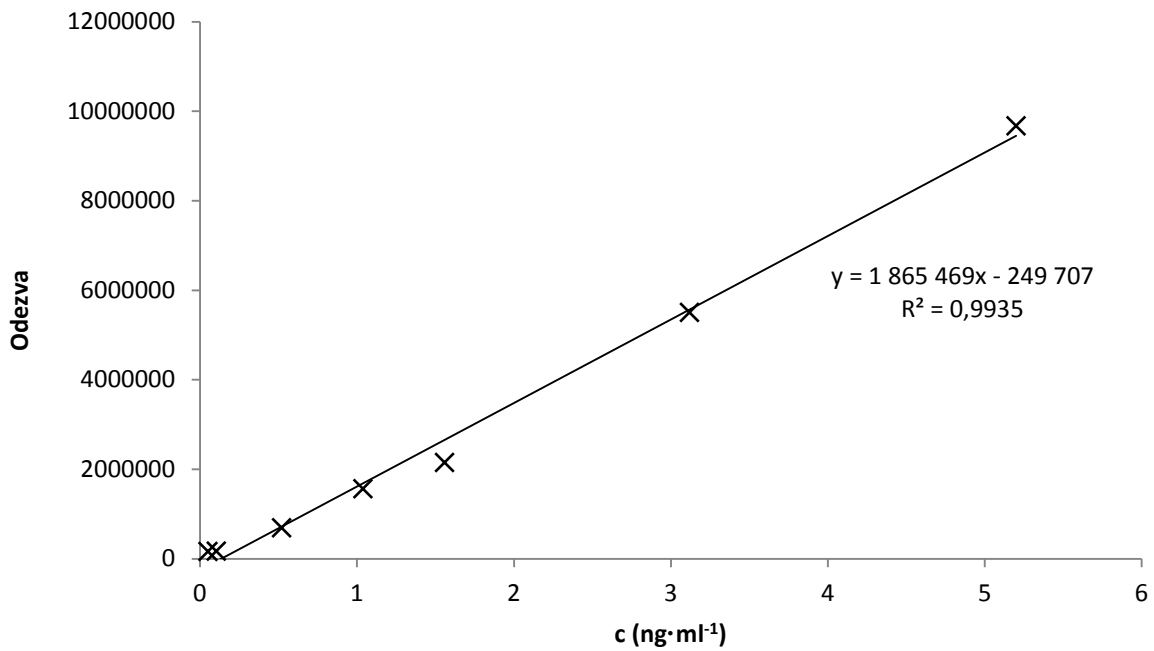
Graf 29: Kalibrační křivka isobornyl acetátu



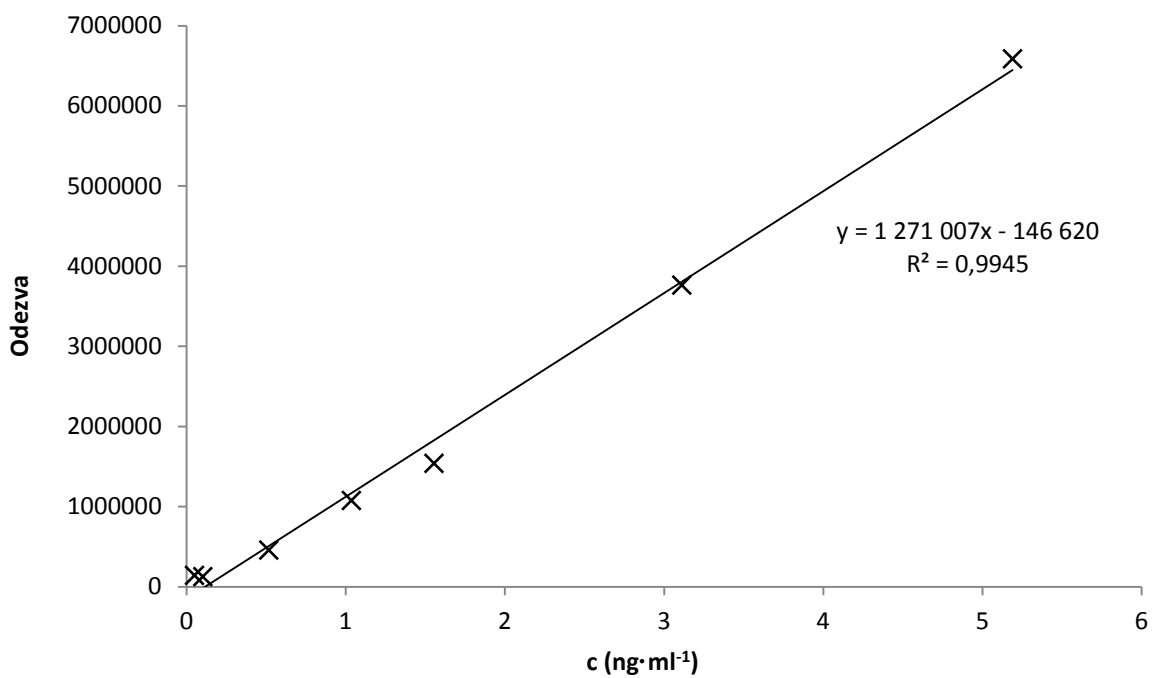
Graf 30: Kalibrační křivka aroacetu



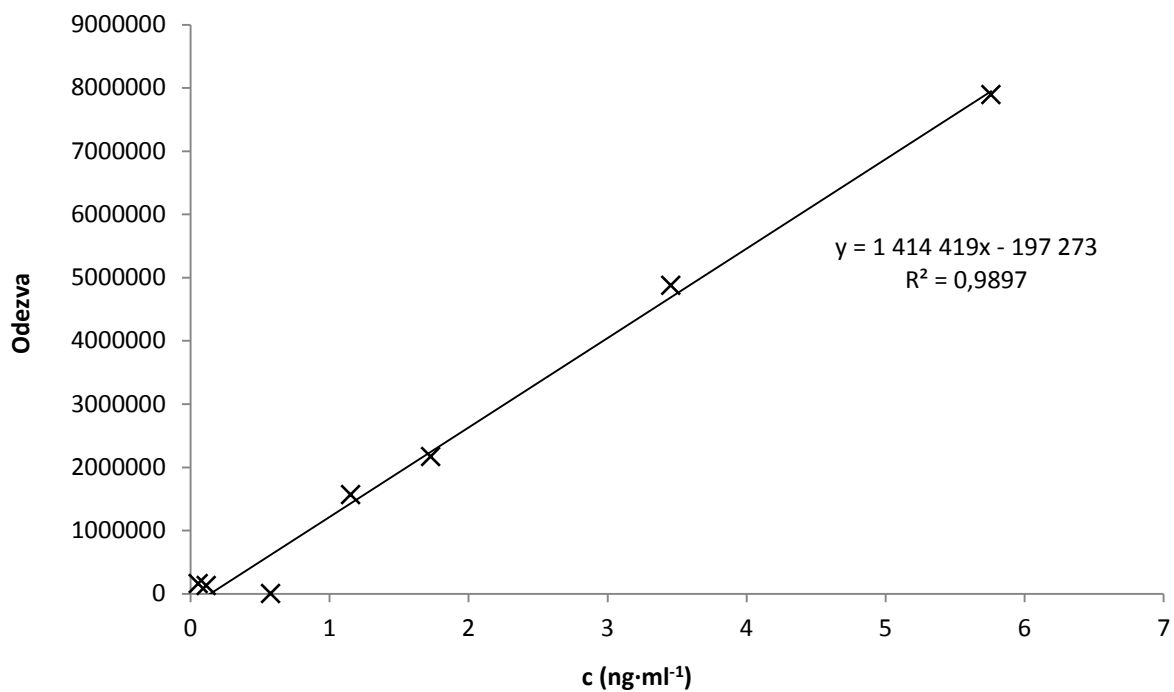
Graf 31: Kalibrační křivka arofloronu



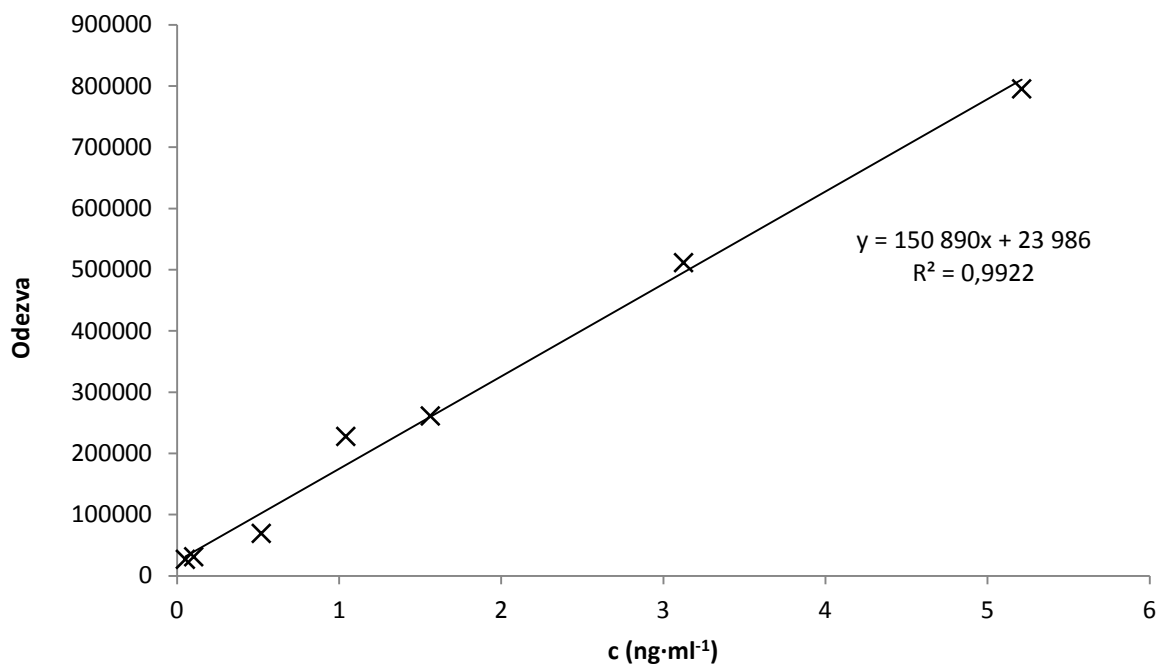
Graf 32: Kalibrační křivka allyl cyklohexyl propionátu



Graf 33: Kalibrační křivka lialalu



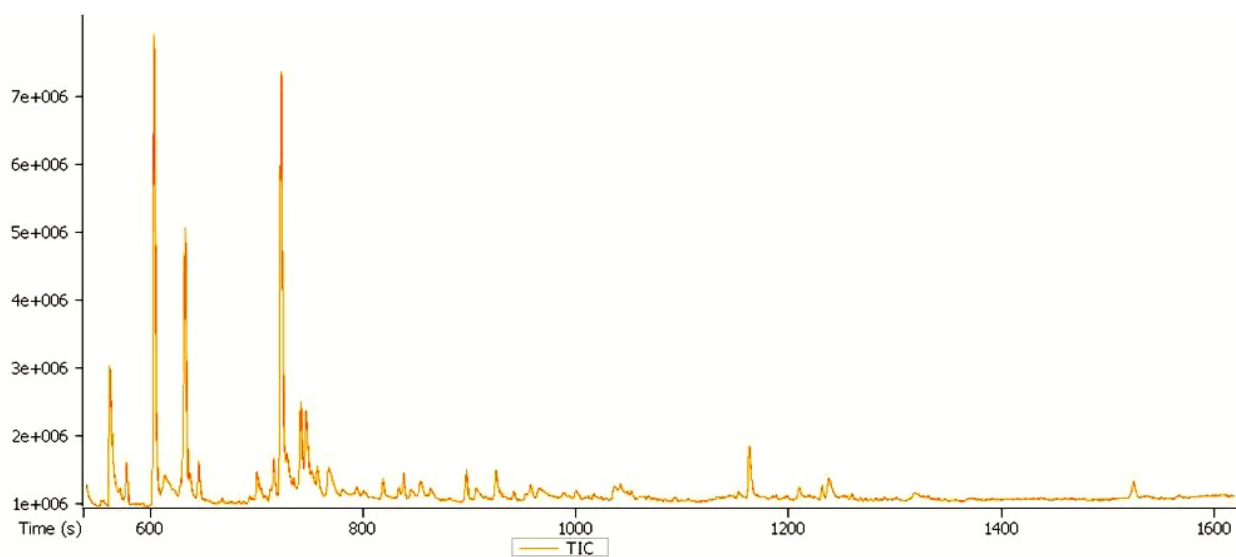
Graf 34: Kalibrační křivka isoamyl salicylátu



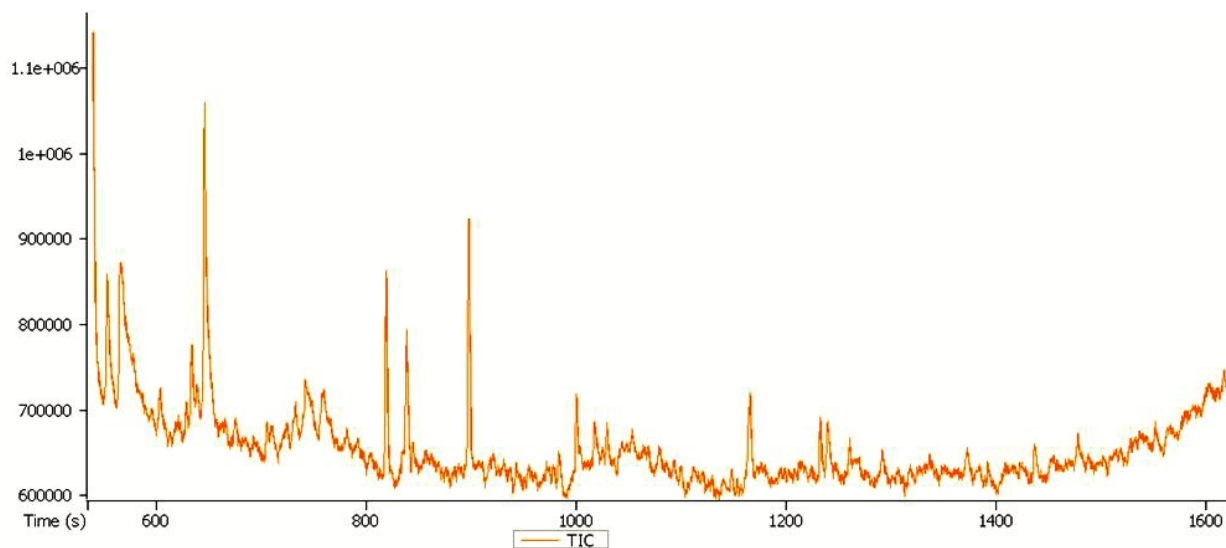
Graf 35: Kalibrační křivka hexylcinnamic aldehydu

Příloha 3: Příklady vybraných chromatogramů reálných vzorků

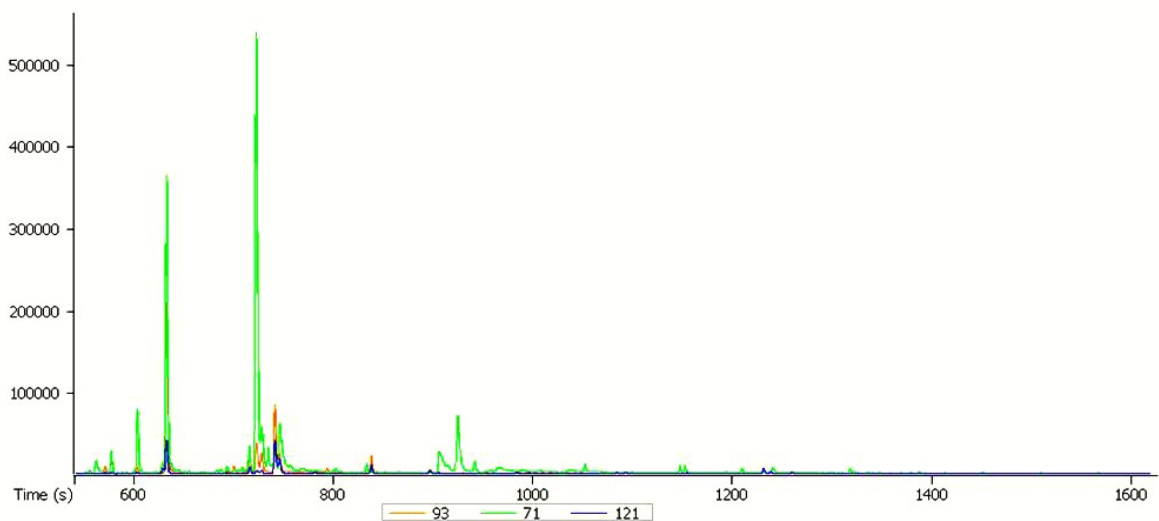
Všechny uvedené chromatogramy pocházejí z reálných vzorků odebraných na přítoku nebo odtoku z ČOV Brno-Modřice ze dne 3. 4. 2014



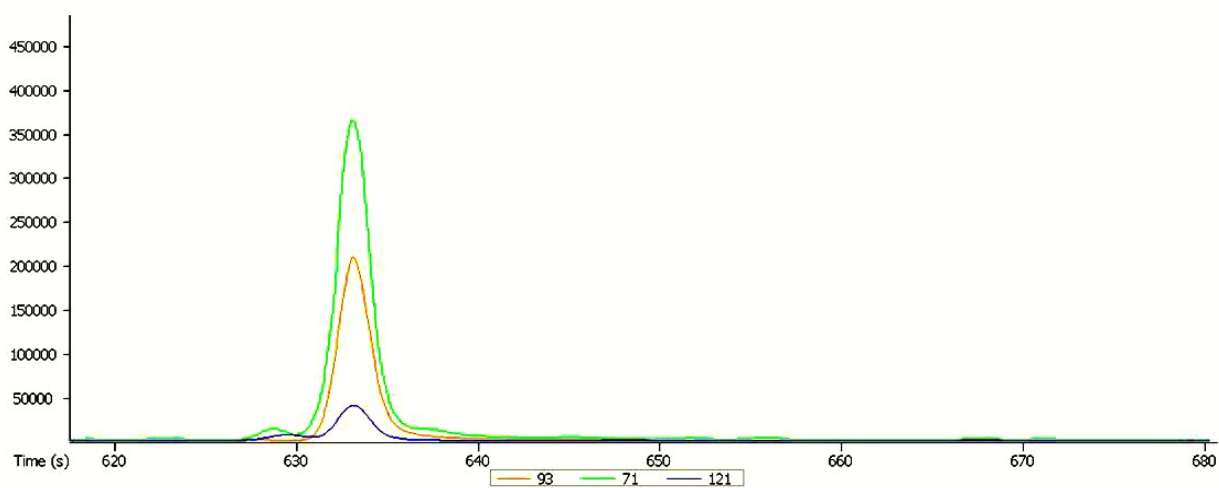
Obr. 45: Příklad chromatogramu reálného vzorku z přítoku do ČOV Brno-Modřice ze dne 3. 4. 2014 bez přidavku standardu



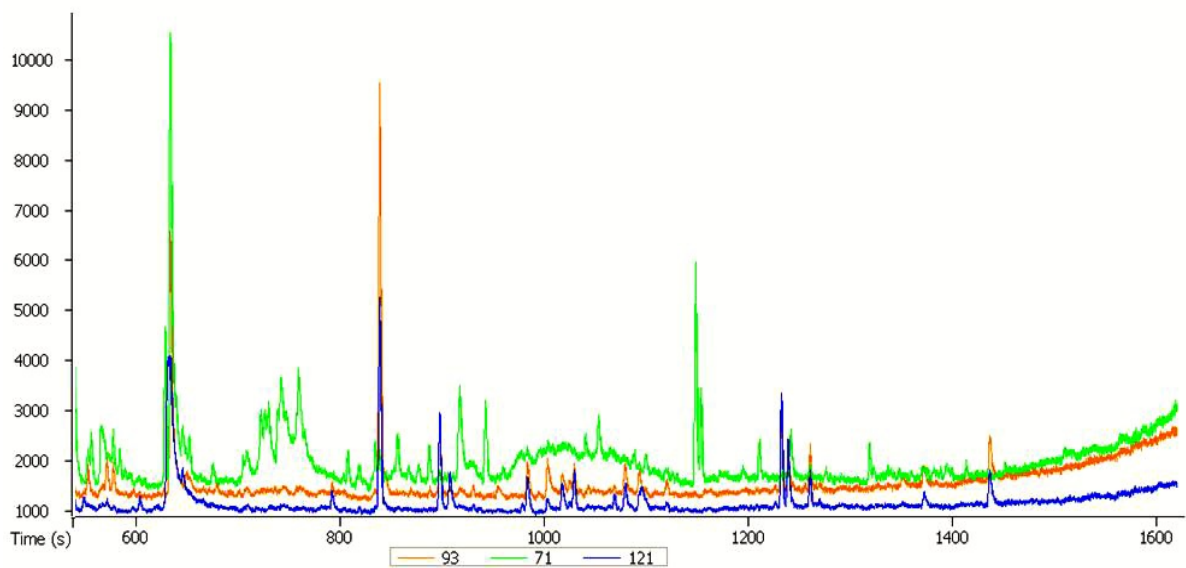
Obr. 46: Příklad chromatogramu reálného vzorku odtoku z ČOV Brno-Modřice ze dne 3. 4. 2014 bez přidavku standardu



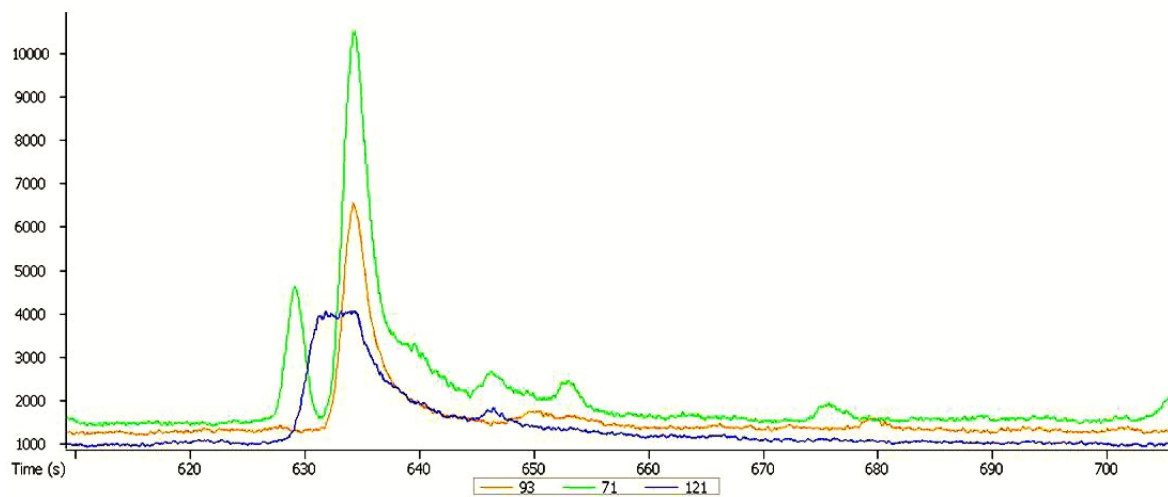
Obr. 47: Příklad chromatogramu linaloolu z přítoku



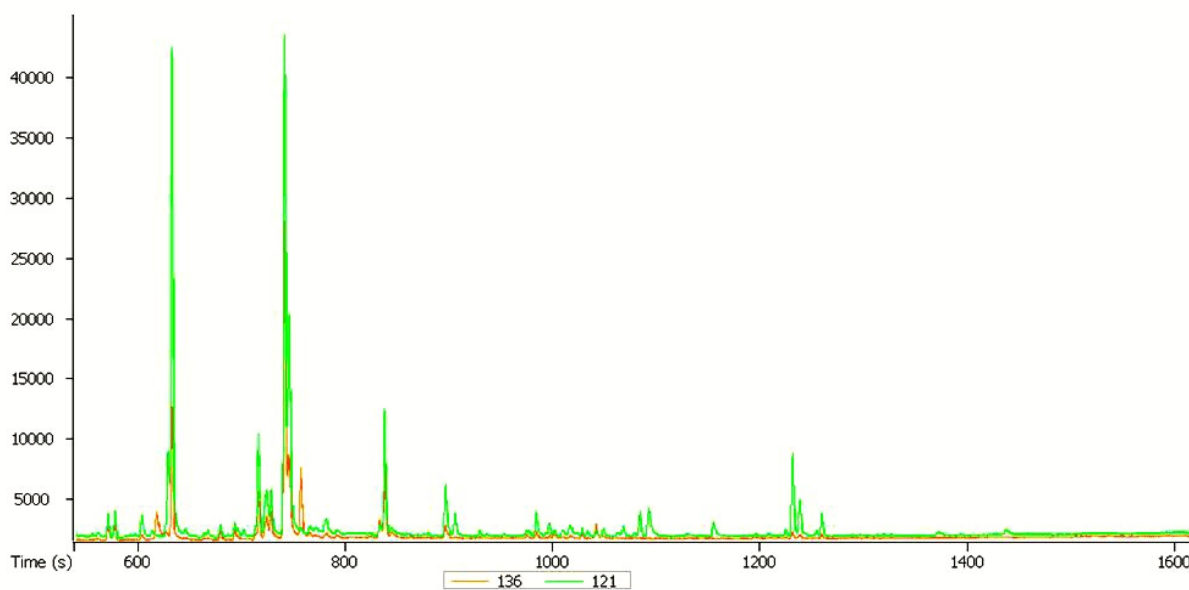
Obr. 48: Příklad chromatogramu linaloolu z přítoku - detailní přiblížení



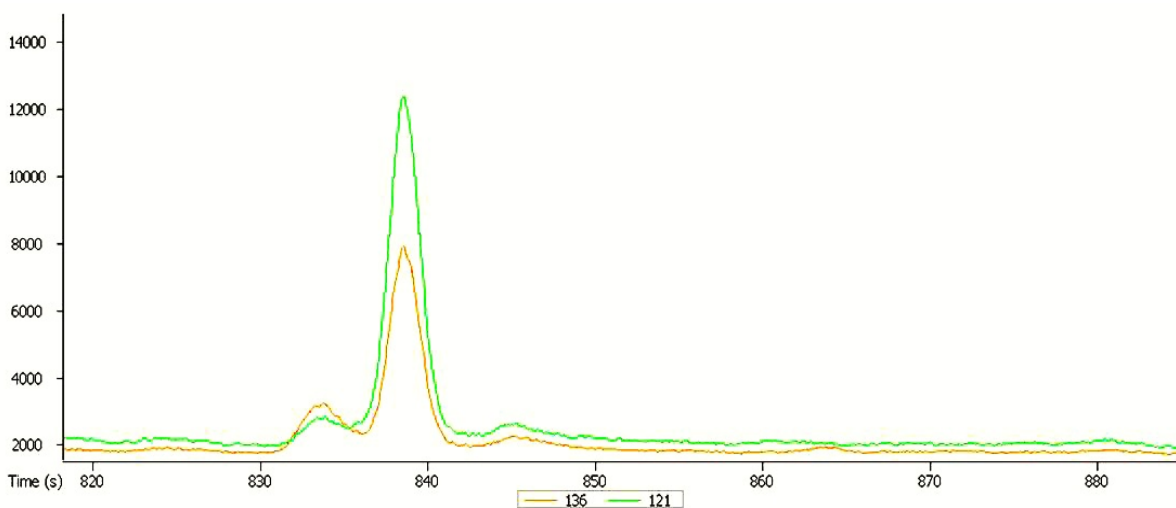
Obr. 49: Příklad chromatogramu linaloolu z odtoku



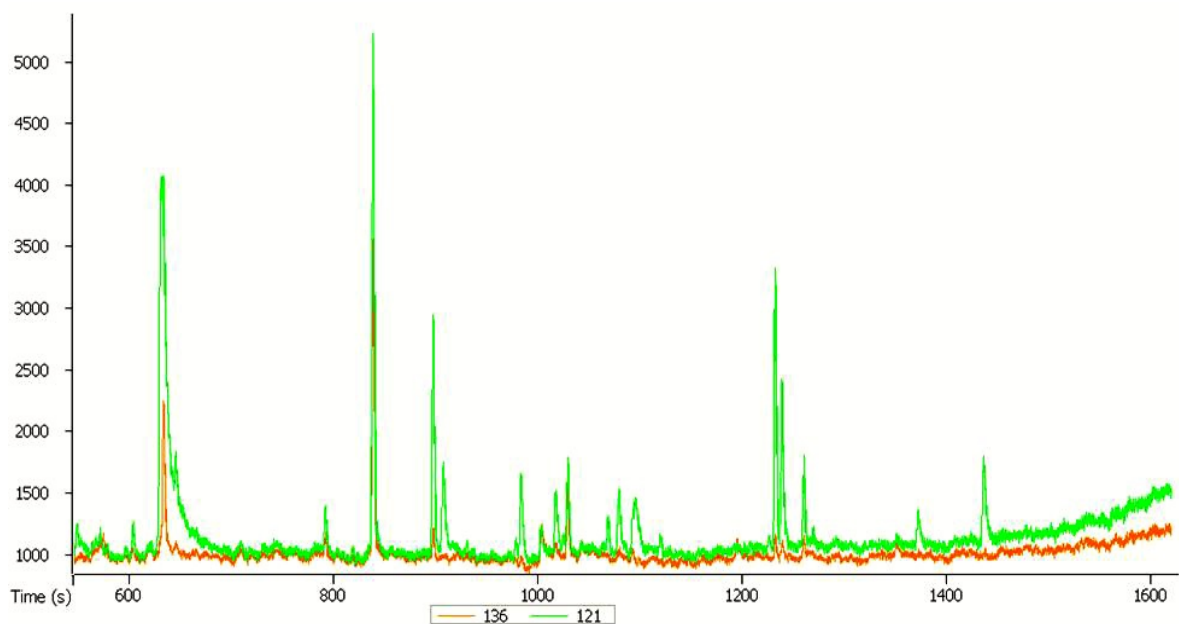
Obr. 50: Příklad chromatogramu linaloolu z odtoku - detailní přiblížení



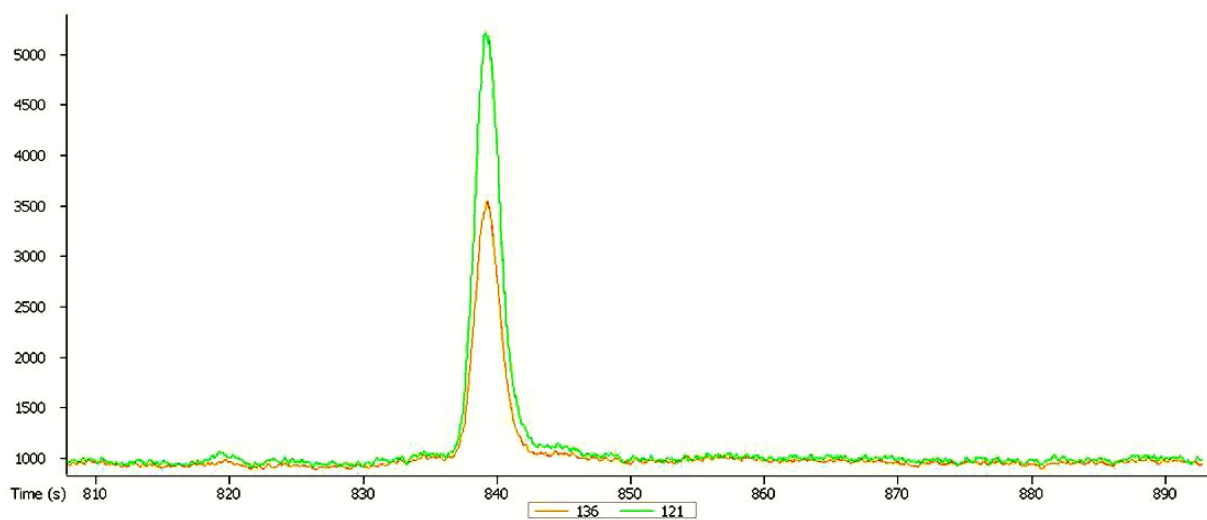
Obr. 51: Příklad chromatogramu isobornyl acetátu z přítoku



Obr. 52: Příklad chromatogramu isobornyl acetátu z přítoku - detailní přiblížení

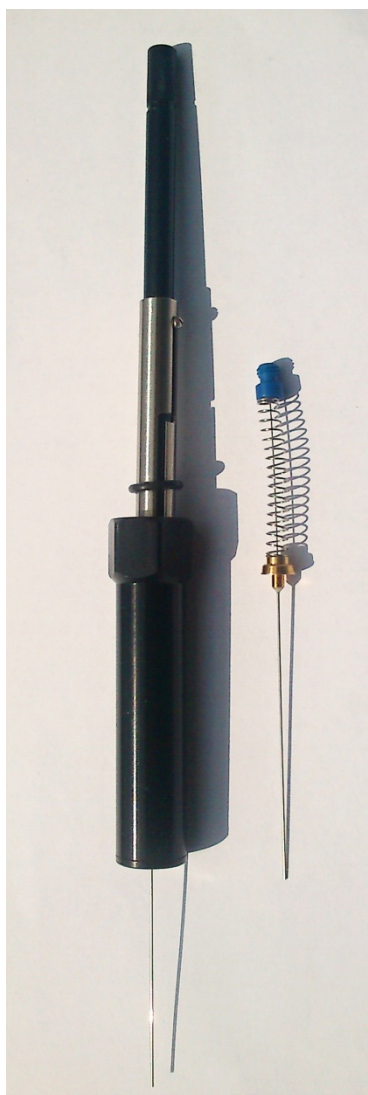


Obr. 53: Příklad chromatogramu isobornyl acetátu z odtoku



Obr. 54: Příklad chromatogramu isobornyl acetátu z odtoku - detailní přiblížení

Příloha 4: Fotodokumentace



Obr. 55: SPME držák s modrým PDMS/DVB 65 μ m vláknem



Obr. 56: Aparatura pro sorpci analytů na SPME vlákno



Obr. 57: Plynový chromatograf Leco Pegasus 4D GCxGC-TOFMS



Obr. 58: Čistírna odpadních vod Brno-Modřice [97]



Obr. 59: Odběrová místa (1: 1 km před ČOV ($49^{\circ}8'1.869''N$, $16^{\circ}37'39.105''E$), 2: výtok z ČOV ($49^{\circ}7'28.019''N$, $16^{\circ}37'37.306''E$), 3: 1 km za ČOV ($49^{\circ}6'56.321''N$, $16^{\circ}37'32.224''E$) na řece Svatce pro stanovení kontaminace povrchové vody odtokové vody z ČOV Brno-Modřice