

VĚDECKÉ SPISY VYSOKÉHO UČENÍ TECHNICKÉHO V BRNĚ

Edice Habilitační a inaugurační spisy, sv. 252

ISSN 1213-418X

Josef Čáslavský

**MODERNÍ METODY
V ANALYTICE
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
Fakulta chemická
Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí

Ing. Josef Čáslavský, CSc.

**MODERNÍ METODY
V ANALYTICE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**

MODERN METHODS IN ENVIRONMENTAL ANALYSIS

ZKRÁCENÁ VERZE HABILITAČNÍ PRÁCE



BRNO 2008

Klíčová slova

Analýza životního prostředí, persistentní organické polutanty, pasivní vzorkování, kapalinová chromatografie, plynová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

Keywords

Environmental analysis, persistent organic pollutants, passive sampling, liquid chromatography, gas chromatography, mass spectrometry

Místo uložení práce

Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí, Fakulta chemická Vysokého učení technického v Brně, Purkyňova 464/118, 612 00 Brno

OBSAH

PŘEDSTAVENÍ AUTORA.....	4
1 ÚVOD	5
2 PASIVNÍ VZORKOVÁNÍ ORGANICKÝCH POLUTANTŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ	6
2.1 Vybrané typy pasivních vzorkovačů persistentních organických polutantů.....	8
2.1.1 Vzorkovače na bázi semipermeabilních membrán (SPMDs).....	9
3 VYSOKOMOLEKULÁRNÍ POLYAROMATICKE UHLOVODÍKY.....	18
4 ANALÝZA KLASTROVÝCH SLOUČENIN BORU	22
5 METODICKÝ ROZVOJ A VYUŽITÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S MĚKKÝMI IONIZAČNÍMI TECHNIKAMI	26
6 ZÁVĚR.....	27
7 POUŽITÁ LITERATURA.....	27
ABSTRACT.....	29

PŘEDSTAVENÍ AUTORA

Ing. Josef Čáslavský, CSc.

Narozen: 30. března 1953 v Rané u Hlinska v Čechách



Vzdělání: 1977 - Ing. - Analytická chemie, VŠCHT Pardubice
1992 - CSc. - Analytická chemie, VŠCHT Pardubice

Zaměstnání:

1977 - 1979 Brněnské papírny, závod Šlapanice, výrobní asistent
1979 - 1983 Ústřední ústav geologický (od r. 1990 Český geologický ústav, od r. 2002 Česká geologická služba), pobočka Brno, odborný pracovník v laboratoři plynové chromatografie
1986 - 1991 tamtéž, vedoucí laboratoře plynové chromatografie
1991 - 1992 Katedra ochrany a tvorby životního prostředí, UJEP Brno, samostatný odborný pracovník specialista
1992 - 1997 Katedra chemie životního prostředí a ekotoxikologie, Masarykova universita, Brno, odborný asistent
1997 - 2005 Ústav analytické chemie AVČR Brno, samostatný vědecký pracovník
2005 - dosud Fakulta chemická VUT v Brně, odborný asistent
Od 4.4.2007 pověřen vedením Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí FCH VUT v Brně

Odborné zaměření:

Analýza organických polutantů v životním prostředí pomocí GC/MSⁿ a HPLC/MSⁿ
Hmotnostní spektrometrie vysokomolekulárních látek (MALDI-TOF MS)
Pasivní vzorkování persistentních organických polutantů v životním prostředí

Členství ve vědeckých organizacích a institucích:

- Česká společnost chemická (člen)
- Česká společnost pro jakost (člen)
- Spektroskopická společnost Jana Marka Marci (od r. 2005: Člen hlavního výboru)
- European Association of Chemistry and the Environment (1999-dosud: člen vědecké rady)

Členství v redakčních radách odborných časopisů:

Environmental Chemistry Letters (Springer) – Associate Editor

Publikace: 47 článků v odborných časopisech
6 příspěvků do monografií
80 přednášek na konferencích a seminářích
47 plakátových sdělení na konferencích
45 technických a výzkumných zpráv

Výuka: Analytická chemie I

Analytické metody technické praxe
Hmotnostní spektrometrie
Ultrastopová analýza organických kontaminantů
Systémy jakosti a ISO normy

1 ÚVOD

Předkládaná habilitační práce je zaměřena na problematiku využití analytických metod pro stanovení xenobiotik přítomných v životním prostředí a pro stanovení biologicky aktivních látek. V jedenácti publikacích jsou shrnuty odborné aktivity uchazeče z období zhruba od roku 1990 do současnosti. Tyto publikace vznikaly na třech pracovištích, na nichž její předkladatel v příslušném období působil.

Prvním z nich byla Katedra ochrany životního prostředí Přírodovědecké fakulty Masarykovy university v Brně, kde byla hlavním předmětem zájmu uchazeče problematika osudu persistentních organických polutantů v životním prostředí a zejména pak metody jejich analýzy založené převážně na chromatografických separačních metodách. Z období působení na MU v Brně byla nejvýznamnější aktivitou uchazeče metodika pasivního vzorkování persistentních organických polutantů pomocí vzorkovačů na bázi semipermeabilních membrán.

Druhým zmíněným pracovištěm uchazeče byl Ústav analytické chemie AVČR v Brně (UIACH), kde byla nosnou problematikou vědeckého zájmu uchazeče hmotnostní spektrometrie velkých molekul využitelná zejména pro stanovení biologicky aktivních látek. S otázkou sledování kontaminace životního prostředí souvisí druhá tematika zmíněná v habilitační práci, a to metoda analýzy těžkých polyaromatických uhlovodíků pomocí metod hmotnostně spektrometrických a jejich spojení s kapalinovou chromatografií.

Další problematikou řešenou rovněž na tomto ústavu bylo využití hmotnostní spektrometrie pro analýzu boranů – syntetických sloučenin boru a vodíku. Sloučeniny tohoto typu byly v 50. letech minulého století testovány jako vysokoenergetická paliva pro raketové a tryskové motory, která obsahem energie uvolnitelné při spalení významně převyšovala paliva na bázi uhlovodíků. Pro toxicitu vznikajících spalin byla tato myšlenka již opuštěna, nicméně borany a heteroborany našly své využití v řadě významných a velmi rozličných aplikací – v oblasti chemie jako katalyzátory, v medicíně při léčbě nádorových onemocnění (BNCT - Boron Neutron Capture Therapy), v energetice jako selektivní extrakční činidla ke snížení aktivity vyhořelých palivových článků jaderných elektráren před jejich uložením. V poslední době byla popsána inhibice proteázy viru HIV pomocí sloučeniny na bázi boranu.

Poslední tematickou skupinu publikací pak tvoří práce zaměřené jednak na metodický rozvoj hmotnostní spektrometrie využívající měkké ionizační techniky, jednak na praktické aplikace této metodiky při řešení analytických problémů vyskytujících se v environmentální analýze.

V současnosti se autor habilitační práce zabývá problematikou xenobiotik a biologicky aktivních látek na svém třetím zmíněném pracovišti, kterým je Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí Fakulty chemické VUT v Brně.

Soubor 11 prací tvořících tuto habilitační práci sestává z jedné kapitoly v monografii, jedné kapitoly ve sborníku odborného semináře a devíti článků v renomovaných odborných časopisech s průměrným impaktním faktorem 1,967.

2 PASIVNÍ VZORKOVÁNÍ ORGANICKÝCH POLUTANTŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

V současnosti jsou v oblasti chemie a technologie životního prostředí stále výraznější prioritou persistentní organické polutanty (POPs), označované rovněž zkratkou PBTs (Persistent, Bioaccumulative, Toxic). Tyto sloučeniny antropogenního původu vstupují do životního prostředí jako produkty spalovacích procesů, jako důsledek úniků při technologických procesech nebo při transportu, případně prostřednictvím odpadních vod po jejich použití v domácnostech; v některých případech jsou do určitých složek životního prostředí vnášeny cíleně. Protože se vyznačují vysokou odolností k degradaci a jsou vysoce lipofilní, dochází k jejich postupné kumulaci v jednotlivých složkách životního prostředí a zejména v lipidických tkáních živých organismů až na koncentrace, které mohou vykazovat negativní účinky. Díky jejich polotěkavosti pak mohou být transportovány od místa vstupu do životního prostředí na neuvěřitelné vzdálenosti, takže prakticky dnes není na Zemi místa, kde by tyto látky nebyly přítomny. V souvislosti se zvyšujícími se nároky na sledování těchto sloučenin (jak co do množství analyzovaných vzorků, tak i co do stále širšího spektra sledovaných sloučenin) vzrůstají i nároky na analytické laboratoře, neboť analýza těchto látek je proces mimořádně náročný a vyžaduje bezpodmínečně preciznost každého provedeného kroku složitých analytických postupů; kromě toho se persistentní organické polutanty vyskytují převážně v mimořádně složitých směsích a při analýzách reálných vzorků bývají doprovázeny značným množstvím koextrahovaných doprovodných látek v koncentracích často o několik řádů vyšších. Vzhledem ke schopnosti bioakumulace, biokoncentrace a biomagnifikace PBTs je nutno ve složkách životního prostředí nebo na nižších trofických úrovních potravních řetězců provádět analýzy na stopové až ultrastopové koncentrační hladině. Dalším nezanedbatelným faktorem je narůstající poptávka po výsledcích typu monitorovacích údajů, tedy nikoliv po diskrétních časově a místně izolovaných hodnotách, ale po časově vážených průměrech v horizontu několika dnů, týdnů až měsíců. Všechny tyto faktory přispěly ke zvýšenému zájmu o metody pasivního vzorkování, které lze v těchto případech výhodně využít.

Pasivní vzorkování je založeno na samovolném transportu molekul vzorkované látky z média vzorkovaného do média sběrného. Hnací silou tohoto transportu je snaha po dosažení rovnováhy mezi těmito dvěma fázemi. Nejjednodušší veličinou popisující tento stav je rovnovážná distribuční konstanta definovaná jako poměr koncentrací analytu ve fázi sběrné a vzorkované:

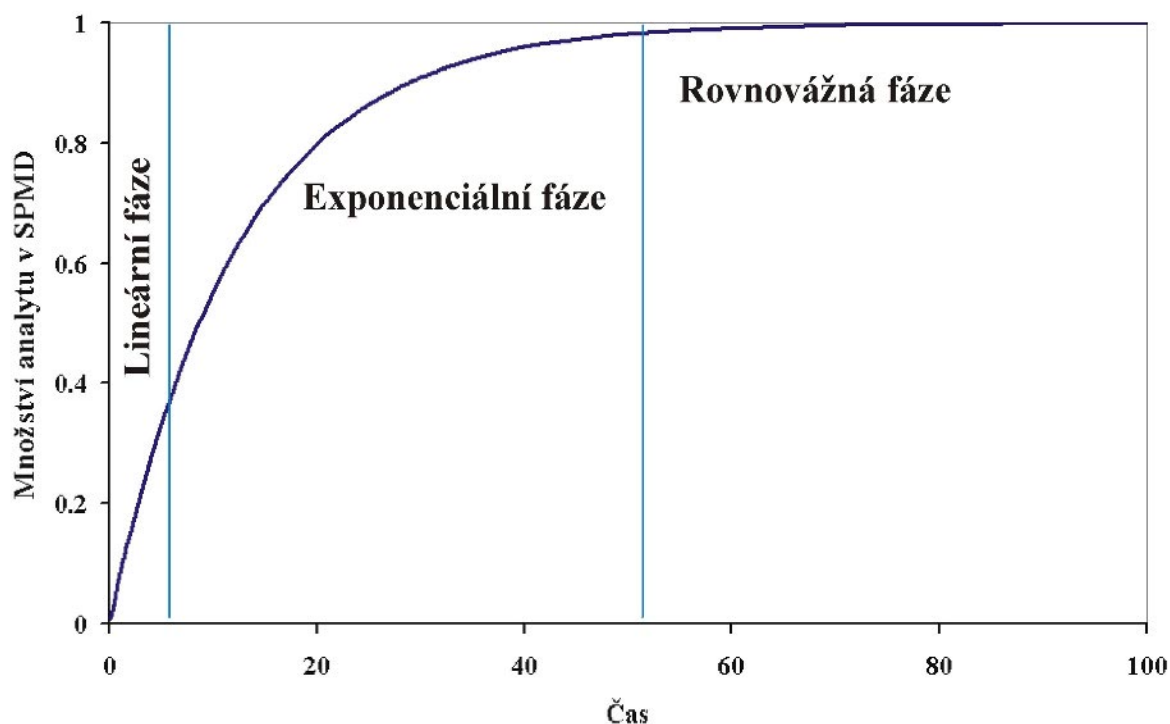
$$K_D = \frac{C_{A,S}}{C_{A,V}} \quad (1)$$

Celkovou rychlost transportu analytu z média vzorkovaného do média sběrného (tj. do pasivního vzorkovače) lze popsat jako rozdíl rychlostí dvou dílčích procesů – příjmu polutantu vzorkovačem, který je úměrný velikosti rychlostní konstanty příjmu k_u a koncentraci analytu ve vzorkovaném médiu $C_{A,V}$, a zpětného úniku polutantu ze vzorkovače do vzorkovaného prostředí, který je kontrolován velikostí rychlostní konstanty úniku k_e a koncentrací polutantu ve sběrném médiu $C_{A,S}$:

$$\frac{dM_{A,S}}{dt} = V_S \frac{dC_{A,S}}{dt} = k_u \times C_{A,V} - k_e \times C_{A,S} \quad (2)$$

Integrací rovnice (2) se zohledněním počátečních podmínek $C_{A,S} = 0$ v čase $t = 0$ lze odvodit vztah:

$$C_{A,S} = \frac{k_u}{k_e} C_{A,V} \left(1 - e^{-\frac{k_e t}{V_S}} \right) \quad (3)$$



Obr. 1: Časová závislost koncentrace polutantu v pasivním vzorkovači

Poměr rychlostních konstant příjmu a úniku v této rovnici je v podstatě distribuční konstanta vzorkovaného analytu mezi sběrným a vzorkovaným médiem, takže vztah (3) lze upravit do podoby:

$$C_{A,S} = K_{SV} C_{A,V} \left(1 - e^{-\frac{k_e t}{V_S}} \right) \quad (4)$$

Grafické znázornění procesu příjmu polutantu pasivním vzorkovačem (časová závislost koncentrace vzorkované látky ve sběrném médiu vzorkovače) je uvedeno na Obr. 1.

Na uvedené závislosti lze vymezit tři funkční oblasti. V první z nich, bezprostředně po začátku vzorkování, je hodnota exponentu v exponenciální funkci vztahu (4) malá; hodnotu výrazu v závorce lze tedy aproximovat vztahem

$$1 - e^x \cong -x \quad (5)$$

který vychází ze známého výrazu pro výpočet limity funkce

$$\lim_{x \rightarrow 0} \frac{e^x - 1}{x} = 1 \quad (6)$$

Dosazením vztahu (5) do rovnice (3) při zanedbání úniku vzorkované látky ze vzorkovače lze odvodit výraz vyjadřující závislost koncentrace polutantu ve sběrném médiu pasivního vzorkovače pro první funkční oblast pasivních vzorkovačů, označovanou jako oblast lineárního příjmu:

$$C_{A,V} = \frac{C_{A,S}}{k_u V_S t} \quad (7)$$

Tato oblast se využívá u tzv. integrativních vzorkovačů, pro něž je typické jednak oddělení sběrného a vzorkovaného média pomocí difúzní bariéry nebo semipermeabilní membrány, jednak vysoká kapacita sběrného média, díky níž je dosažení rovnováhy otázkou měsíců až let. Tyto vzorkovače poskytují informaci o průměrné koncentraci vzorkovaných polutantů ve sledovaném médiu během expoziční periody, která se typicky pohybuje v horizontu týdnů až měsíců.

Třetí funkční oblast pasivního vzorkovače je charakterizována vysokou hodnotou exponentu v exponenciální funkci vztahu (4); díky tomu je hodnota celého exponenciálního výrazu zanedbatelná, celý výraz v závorce se blíží hodnotě 1 a rovnice (4) se zjednoduší na tvar:

$$C_{A,V} = \frac{C_{A,S}}{K_{SV}} \quad (8)$$

Této oblasti využívají tzv. rovnovážné vzorkovače charakteristické přímým kontaktem obou médií a malou kapacitou média sběrného, díky níž je dosažení rovnováhy se vzorkovaným prostředím otázkou nejčastěji desítek minut. Tyto vzorkovače poskytují informaci o víceméně momentální koncentraci sledovaných polutantů ve vzorkovaném prostředí.

V druhé funkční oblasti, označované jako exponenciální, nelze vztah (4) zjednodušit; proto se tato oblast v praxi nevyužívá.

2.1 VYBRANÉ TYPY PASIVNÍCH VZORKOVAČŮ PERSISTENTNÍCH ORGANICKÝCH POLUTANTŮ

Velký zájem o postupy pasivního vzorkování persistentních organických polutantů v životním prostředí vedl k návrhu a využití značného množství různých typů zařízení určených pro vzorkování vod i ovzduší, založených na nejrůznějších principech.

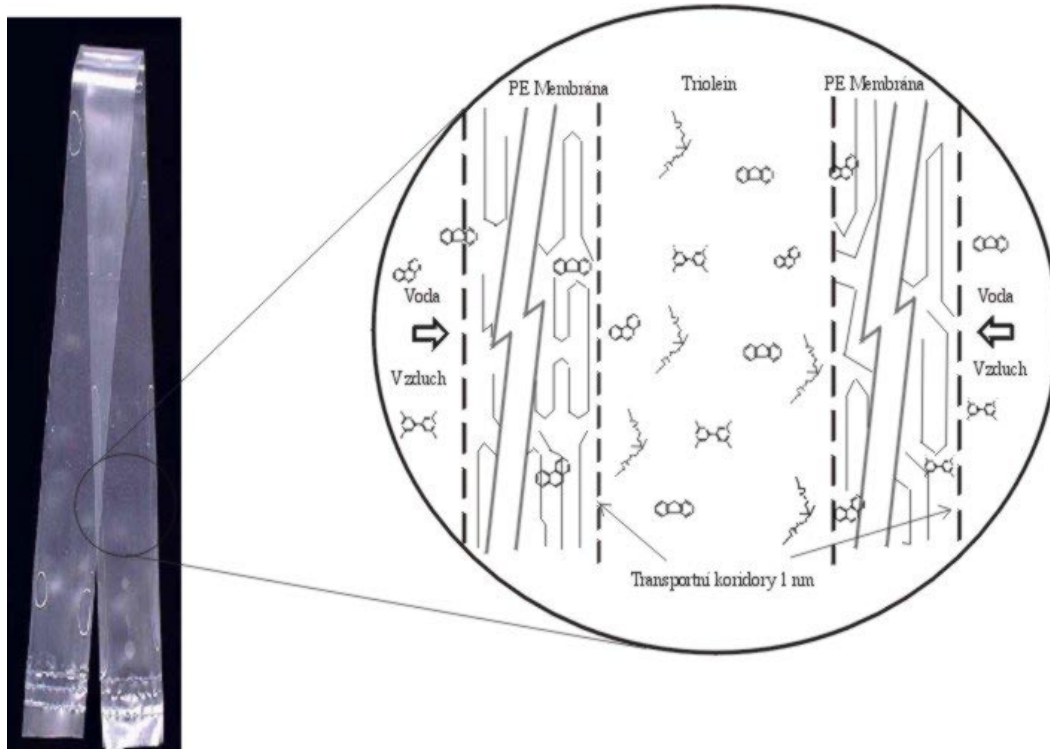
Pasivní vzorkovače využívané pro vzorkování organických polutantů v životním prostředí lze rozdělit do dvou skupin. První tvoří **vzorkovače rovnovážné**, které jsou charakteristické malou kapacitou sběrného média a jeho přímým kontaktem s médiem vzorkovaným během vzorkování, které trvá řádově desítky minut. Druhou skupinu tvoří **vzorkovače integrativní**, které se vyznačují vysokou kapacitou sběrného média a oddělením sběrného a vzorkovaného média difúzní bariérou nebo semipermeabilní membránou, které definovaným způsobem moderují transport polutantů do vzorkovače a v případě semipermeabilních membrán také ovlivňují selektivitu pasivního vzorkovače.

Pasivní vzorkovače se vyznačují celou řadou velmi výhodných vlastností a charakteristik, z nichž nejvýznamnější jsou zřejmě jednoduché využívání, relativně snadné laboratorní zpracování exponovaných médií, možnost vzorkování kdekoli a kdykoli bez nároku na přívod elektrické energie a minimální ekonomické nároky na jejich využívání. Jejich slabinou je však poněkud obtížnější výpočet koncentrací stanovovaných látek ve vzorkované matici, který musí vycházet z množství analytu nalezeného ve sběrném médiu exponovaného vzorkovače. U rovnovážných vzorkovačů je tento výpočet založen na distribučních konstantách, u vzorkovačů integrativních pak na tzv. vzorkovacích rychlostech dané sloučeniny. Dostupné hodnoty obou těchto veličin mohou být nepřesné; kromě toho může být proces vzorkování ovlivněn ještě dalšími vlivy, které výše uvedené konstanty nezohledňují (např. teplota, rychlost proudění média atd.). Tyto vlivy pak přispívají ke zvýšení nejistoty vzorkování.

Prioritou odborného zájmu autora této práce byly, jsou a nadále budou vzorkovače na bázi semipermeabilních membrán, známé pod zkratkou SPMDs (Semipermeable Membrane Devices).

2.1.1 Vzorkovače na bázi semipermeabilních membrán (SPMDs)

Zařízení využívajícího principu selektivní permeace molekul organických polutantů polopropustnými membránami jsou známa již více než čtvrt století. Pravděpodobně prvním zařízením tohoto typu využitým k jejich *in-situ* izolaci a zakoncentrování byl vzorkovač popsany Byrnem a Aylottem roku 1980 [1], který byl tvořen váčkem ze syntetického polymeru (regenerovaná celulóza, polyvinylchlorid, polytetrafluorethylen) naplněného nepolárním organickým rozpouštědlem. Tento vzorkovač v podstatě simuloval proces biokoncentrace polutantů živými organismy - jejich difúze syntetickou membránou byla obdobná transportu biomembránami a organické rozpouštědlo je akumulovalo obdobně jako lipidy organismů. Na stejném principu byl založený dialýzní váček s vylučovací mezí 1000 Da naplněný n-hexanem, který použil o sedm let později Södergren [2]. Obě tato uspořádání měla určité nevýhody; u vzorkovačů s nepolárními membránami docházelo během expozice ke značnému úniku sběrného média (nepolárního organického rozpouštědla) ze vzorkovače do okolního prostředí, zařízení s polárními membránami typu regenerované celulózy vykazovala díky charakteru membrány poměrně nízké koncentrační efekty pro nepolární organické polutanty. Řešení přinesly až vzorkovače typu SPMDs, u nichž je využita nepolární membrána (polyethylenová) umožňující velmi efektivní zakoncentrování nepolárních organických polutantů; jako sběrné médium je využit vysokomolekulární lipid triolein, 1,2,3-tri(cis-9-octadecenoyl)glycerol sumárního vzorce $C_{57}H_{104}O_6$, který díky své průměrné molekulové hmotnosti 885,5 amu během expozice neuniká. Vzorkovač tohoto typu použil poprvé J. Huckins roku 1990 [3]. Výběr trioleinu, který nahradil původně použité kapří lipidy získané extrakcí homogenizovaných ryb organickým rozpouštědlem, nebyl ostatně náhodný, neboť tato sloučenina je hlavním lipidem řady vodních organismů.



Obr. 2: Vzorkovač typu SPMD

Vlastní postup vzorkování pomocí SPMDs je poměrně jednoduchý. Tyto vzorkovače jsou dnes komerčně dostupné, nicméně řada pracovišť dává přednost jejich vlastnoruční přípravě, kdy se ploché předčištěné polyetylenové trubice délky 104 cm a šířky 2,5 cm o tloušťce stěny zhruba 75 μm plní 1 ml trioleinu a poté se na obou koncích uzavřou (obr. 2). Až do expozice jsou tyto vzorkovače uchovávány v dobře uzavřených kontejnerech v mrazáku. Pro expozici se tyto vzorkovače fixují do různých držáků podle typu a povahy vzorkovaného média, které jsou rovněž komerčně dostupné. V publikacích autora habilitační práce byly využívány SPMDs připravené vlastnoručně a držáky pro expozici byly zhotoveny v dílnách Ústavu analytické chemie podle návrhů autora této práce; na obr. 3 a 4 jsou zařízení pro vzorkování tekoucích vod a volného ovzduší.



Obr. 3: Držák SPMDs pro vzorkování vod



Obr. 4: Držák SPMDs pro vzorkování ovzduší

Pomocí SPMDs bylo dosaženo velmi dobré efektivity vzorkování a zakoncentrování organických polutantů z vod, nicméně otázka kvantifikace neboli výpočtu průměrné koncentrace vzorkované sloučeniny v expozičním intervalu na základě množství nalezeného ve vzorkovači zůstávala poněkud komplikovanou. O teoretické zpracování této problematiky se pokusil již záhy po uvedení těchto vzorkovačů J. Huckins [4]; v modelu prezentovaném v citované práci vycházel z předpokladu, že difúze membránou je klíčovým krokem moderujícím akumulaci polutantů do lipidu vzorkovače. Za předpokladu neexistující resistance vůči difúzi látky v lipidu, konstantní

koncentrace látky ve vzorkovaném prostředí a konstantní teploty vyjádřil rychlost transportu látky z prostředí F [$\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$] vztahem:

$$F = \frac{D_p A (C_{PO} - C_{PI})}{Y} = \beta_p A_p (C_{PO} - C_{PI}) = \beta_w A_p (C_w - C_{WI}) = V_T \frac{dC_T}{dt} \quad (9)$$

kde D_p je difuzivita neboli permeabilita analytu v polyethylenové membráně [$\text{m}^2\cdot\text{h}^{-1}$], A_p je plocha membrány [m^2], Y je tloušťka membrány [m], β_p je koeficient přenosu hmoty v polyethylenu neboli poměr D/Y [$\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$], β_w je koeficient přenosu hmoty v intersticiální vrstvičce vody u povrchu polyethylenu, V_T je objem lipidu (trioleinu) [m^3], t je čas [h], C_{PO} a C_{PI} jsou koncentrace analytu na vnějším a vnitřním povrchu membrány [$\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$], C_w a C_{WI} jsou analytické koncentrace v okolní vodě a v přilehlé vrstvě vody [$\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$], C_T je analytická koncentrace látky v lipidu [$\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]. Pomocí rovnovážných rozdělovacích koeficientů pro polyethylen a triolein K_{PT} a pro polyethylen a vodu K_{PW} lze rovnici (9) upravit na tvar:

$$F = \beta_0 A_p (C_w K_{PW} - C_T K_{PT}) = V_T \frac{dC_T}{dt} \quad (10)$$

kde β_0 je celkový koeficient přenosu hmoty. Integrací rovnice 10 s počáteční podmínkou $C_T = 0$ pro $t=0$ lze získat vztah popisující analytickou koncentraci látky v lipidu:

$$C_T = \frac{C_w K_{PW}}{K_{PT}} \left(1 - e^{-\frac{\beta_0 A_p K_{PT} t}{V_T}} \right) = C_w K_{TW} (1 - e^{-k_w t}) \quad (11)$$

Formální podobnost vztahů (4) a (11) je zřejmá. Dalším zpracováním tohoto vztahu za předpokladu linearitu příjmu polutantu v první fázi vzorkování dospěli autoři k jednoduchému vztahu pro výpočet průměrné - časově vážené koncentrace vzorkované sloučeniny ve vzorkovaném prostředí po dobu expozice pasivního vzorkovače C_V na základě množství nalezeného ve vzorkovači, který se dnes široce využívá při kvantifikaci s využitím pasivního vzorkování pomocí SPMDs:

$$C_V = \frac{C_{SPMD} V_{SPMD}}{R_s t} \quad (12)$$

Hodnota R_s je tzv. vzorkovací rychlost (Sampling Rate), která se vzhledem k jejímu fyzikálnímu rozměru vyplývajícímu z uvedené rovnice [$\text{l}\cdot\text{d}^{-1}$ nebo $\text{m}^3\cdot\text{d}^{-1}$] interpretuje jako objem vzorkované matrice vyextrahovaný vzorkovačem za jednotku času. Hodnoty R_s jsou individuální pro každou sloučeninu a pro nejvýznamnější třídy organických polutantů již byly publikovány – např. pro polyaromáty ve vodě [5], pro polychlorované bifenylly a chlorované benzeny ve vodě [6].

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) patří k tradičním a často studovaným polutantům životního prostředí a jsou rovněž objektem zájmu autora této práce. V prvním období bylo využíváno „klasických“ aktivních vzorkovacích postupů. Pomocí vysokoobjemových vzorkovačů byly sledovány koncentrace PAHs v ovzduší České republiky [7]. Tyto vzorkovací postupy jsou ovšem ekonomicky velmi náročné a k získání spolehlivých výsledků je zapotřebí vysoce kvalifikované obsluhy vzorkovacího zařízení. Proto byly ověřeny možnosti pasivního

vzorkování těchto látek pomocí vzorkovačů typu SPMDs, a to úspěšně. První výsledky z této oblasti byly získány v areálu závodu DEZA Valašské Meziříčí, kde byly pomocí SPMDs vzorkovány nejen technologické a přírodní vody, ale rovněž pracovní a volné ovzduší a také půdy [8]. Pro kvantifikaci 16 PAHs dle seznamu prioritních polutantů US EPA ve vodách byly využity hodnoty R_S uvedené v publikaci [9], které byly stanoveny na základě laboratorních kalibračních experimentů, při nichž byly SPMDs exponovány v přesně kontrolovaných podmínkách.

Hodnoty $R_{S,A}$ pro ovzduší nebyly v době sepisování zmíněné publikace ještě k dispozici; příčinou je zjevně daleko obtížnější realizace laboratorních kalibračních experimentů s médii ve skupenství plynném; u PAHs je dalším komplikujícím faktorem jejich distribuce mezi plynnou a partikulární fází. Proto byl použit stejný přístup jako si zvolili finšští autoři [10], kteří našli korelaci mezi hodnotami $\log K_{OW}$ a $R_{S,A}$ odvozenou regresní analýzou experimentálních dat pro polychlorované bifenylly ve tvaru:

$$R_{S,A} = \frac{9,401}{1 + 110170 e^{-1,827 \log K_{OW}}} \quad (13)$$

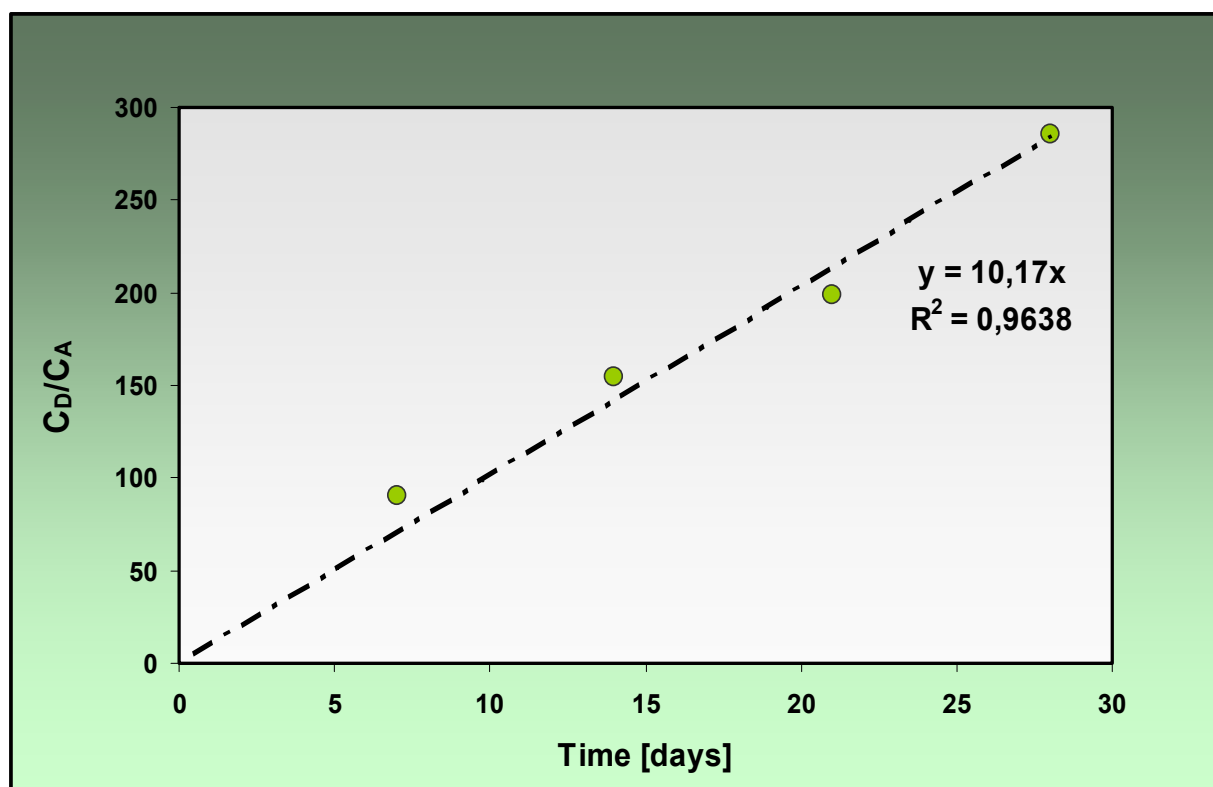
Tato korelace byla využita k odhadu hodnot $R_{S,A}$ pro polyaromatické uhlovodíky na základě jejich hodnot $\log K_{OW}$. Byli jsme si přitom vědomi skutečnosti, že tyto hodnoty mohou být, zejména pro vyšší polyaromáty, poměrně daleko od reality. Jedním z důvodů byla skutečnost, že hodnoty R_S pro vodu nevykazují monotónní závislost na veličině $\log K_{OW}$; po vzestupu od dvoujaderného naftalenu po čtyřjaderné polyaromáty stoupá, pak následuje pokles k šestijaderným sloučeninám [5].

V dalším období byla proto věnována pozornost otázce určení spolehlivějších hodnot vzorkovacích rychlostí v ovzduší pro polyaromatické uhlovodíky, které jsou jednou z nejčastěji sledovaných skupin persistentních organických polutantů v této matici.

Za tímto účelem byl ve spolupráci s tehdejší Okresní hygienickou stanicí v Karviné realizován experiment založený na porovnání výsledků kontinuálního monitoringu PAHs využívajícího aktivního vzorkování ovzduší a výsledků získaných pomocí paralelně exponovaných SPMDs při měnící se době expozice v rozsahu 1 – 4 týdnů. Hodnoty $R_{S,A}$ byly vyhodnoceny lineární regresí závislosti založené na upravené rovnici (11) převedené do tvaru přímky procházející počátkem:

$$\frac{M_{(SPMD)}}{C_A} = R_{SA} \cdot t \quad (14)$$

kde $M_{(SPMD)}$ bylo množství polyaromátu nalezené v SPMD, C_A jeho koncentrace v ovzduší vyhodnocená aktivním vzorkováním a t byla doba expozice konkrétního SPMD. Na obrázku 5 je ukázka této závislosti pro fenantren, kdy hodnota směrnice je přímo hledanou veličinou $R_{S,A}$. Získané výsledky byly publikovány [11].



Obr. 5: Závislost poměru množství nalezeného v SPMD a průměrné koncentrace v ovzduší na době expozice pro fenanthren

Další studovanou otázkou byla problematika mechanismu transportu polyaromatických uhlovodíků do vzorkovačů typu SPMDs. Všeobecně se předpokládá, že pasivní vzorkovače jsou v ovzduší schopny vzorkovat pouze polutanty z plynné fáze. Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou však za normálních klimatických podmínek severního mírného pásma distribuovány mezi plynnou a partikulární fází představovanou částicemi polétavého prachu; k odhadu podílu adsorbovaných semivolatilních sloučenin v aerosolu ϕ lze například využít vztah, který odvodili Junge a Pankow [12] ve tvaru:

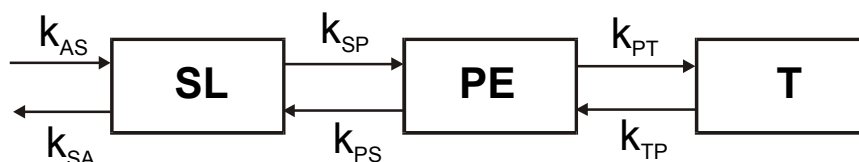
$$\phi = \frac{c\theta}{p_L^0 + c\theta} \quad (15)$$

kde θ je povrchová plocha částic vztažená na jednotku objemu vzduchu [$\text{cm}^2 \cdot \text{cm}^{-3}$] (pro městské ovzduší bývá aproximována hodnotou $\theta = 1,1 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{cm}^{-3}$), p_L^0 [Pa] je tenze par příslušné čisté látky ve stavu podchlazené kapaliny, parametr c [Pa·cm] je založen na teplotě desorpce z prachových částic, teplotě vypařování sloučeniny a počtu molů adsorpčních míst v aerosolu; většinou se používá hodnota 17,2. Zhruba lze konstatovat, že v ovzduší našich klimatických podmínek se:

1. naftalen, acenaftylen, acenaften a fluoren nacházejí výhradně v plynné fázi;
2. fenantren, antracen, fluoranten, pyren, benzo[a]antracen a chrysen se vyskytují jak v plynné, tak v partikulární fázi;
3. benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[a]pyren, dibenzo[a,h]antracen, benzo[g,h,i]perylene a indeno[1,2,3-c,d]pyren se vyskytují pouze v partikulární fázi.

Navzdory výše uvedenému jsme ve vzorkovačích typu SPMDs exponovaných v kontaminovaném ovzduší nacházeli kompletní sestavu všech 16 PAHs podle seznamu prioritních polutantů US EPA, tedy od naftalenu po indeno[1,2,3-cd] pyren. Proto jsme se v první fázi pokusili objasnit mechanismus příjmu polutantů z partikulární fáze do SPMD. Nejpravděpodobnějším vysvětlením je vytvoření lepkavé lipidické vrstvičky na vnějším povrchu polyethylenu na počátku expozice SPMDs, vznikající penetrací malého množství nízemolekulárních lipidických látek přítomných ve „vnitřním“ trioleinu jako nečistoty; pravděpodobně jde o kyselinu olejovou a její monoester - monomethyloléát. Na této vrstvičce pak ulpívají prachové částice z ovzduší, které s ní přišly do kontaktu. Následně může dojít buď k ponoření prachové částice do vnější vrstvičky a k „extrakci“ adsorbovaných sloučenin s následným transportem přes polyethylenovou membránu do „vnitřního“ trioleinu, nebo k prostému přilepení částice; adsorbované sloučeniny pak mohou být uvolněny během laboratorního zpracování exponovaného vzorkovače v závislosti na zvoleném pracovním postupu.

Dále bylo zapotřebí řešit poměrně důležitou otázku ovlivnění linearitu příjmu polutantu v první funkční oblasti pasivního vzorkovače existencí této vrstvičky. K tomuto účelu byl využit matematický model koncepčně vycházející z práce R. W. Galeho [13]. V úvahu byly vzaty tři složky, a to již zmíněná lipidická vrstvička, polyethylen a triolein uvnitř vzorkovače. Schématické znázornění tohoto modelu včetně uvažovaných transportních procesů je na obrázku 6.



Obr. 6: Schéma tříložkového modelu

V tomto schématu značí SL povrchový lipid, PE polyethylen a T triolein uvnitř vzorkovače, jednotlivé transportní procesy jsou znázorněny pomocí konstant přenosu hmoty s dvojpísmennými indexy naznačujícími směr příslušného procesu: A je okolní vzduch, S je povrchový lipid, P je polyethylen a T triolein.

V následující části je uveden příklad řešení modelu pro fenantren, který je jedním z nejrozšířenějších polyaromatických uhlovodíků. Při výpočtu byla předpokládána pseudokonstantní koncentrace vzorkované sloučeniny v okolním vzduchu a shoda fyzikálních vlastností povrchového a vnitřního trioleinu. Transportní procesy vedoucí ke změnám koncentrací vzorkované sloučeniny v jednotlivých uvažovaných složkách systému vzorkovače (SL – povrchový lipid, PE – polyethylen, T – triolein) lze popsat systémem tří simultánních diferenciálních rovnic:

$$V_S \frac{dC_S}{dt} = \beta_{AS} A_P C_A - A_P C_S (\beta_{SA} + \beta_{SP}) + \beta_{PS} A_P C_P \quad (16)$$

$$V_P \frac{dC_P}{dt} = \beta_{SP} A_P C_S - A_P C_P (\beta_{PT} + \beta_{PS}) + \beta_{TP} A_P C_T \quad (17)$$

$$V_T \frac{dC_T}{dt} = \beta_{PT} A_P C_P - \beta_{TP} A_P C_T \quad (18)$$

Zde V značí objem příslušné složky, C koncentraci, β koeficient přenosu hmoty, A plochu, přes kterou se transport uskutečňuje. Jednopísmenné indexy označují složku, dvojpísmenné naznačují směr transportního procesu.

V tomto systému byly zavedeny následující zjednodušení a aproximace:

Hodnoty součinu koeficientu přenosu hmoty a transportní plochy byly nahrazeny příslušnými rychlostními konstantami:

$$k = \beta \times A \quad (19)$$

Hodnoty transportních koeficientů procesů směřujících do polyethylenu byly vyjádřeny pomocí hodnoty distribuční konstanty polyethylen-triolein, jejíž hodnota je přibližně 6,3 [4]:

$$K_{TP} = K_{SP} = \frac{k_{PT}}{k_{TP}} \approx 6,3 \quad \Rightarrow \quad k_{TP} = k_{SP} = \frac{k_{PT}}{6,3} \quad (20)$$

Hodnota rozdělovací konstanty triolein-vzduch K_{TA} , která je prakticky nedostupná, byla aproximována pomocí rozdělovací konstanty oktanol-vzduch, a na jejím základě byly vyjádřeny hodnoty koeficientů přenosu hmoty mezi trioleinem a vzduchem:

$$K_{TA} = \frac{k_{AS}}{k_{SA}} \quad \Rightarrow \quad k_{SA} = \frac{k_{AS}}{K_{TA}} \approx \frac{k_{AS}}{K_{OA}} \quad (21)$$

S využitím těchto zjednodušení lze soustavu simultánních diferenciálních rovnic upravit do tvaru:

$$dC_S = \left[k_{AS} C_A - C_S \left(\frac{k_{AS}}{K_{OA}} + \frac{k_{PT}}{6} \right) + k_{PT} C_P \right] \frac{dt}{V_S} \quad (22)$$

$$dC_P = \left[\frac{C_S}{6} - 2C_P + \frac{C_T}{6} \right] k_{PT} \frac{dt}{V_P} \quad (23)$$

$$dC_T = \left[C_P - \frac{C_T}{6} \right] k_{PT} \frac{dt}{V_T} \quad (24)$$

Parametry tohoto systému byly vyčísleny následovně:

Aktivní plocha SPMD při šířce ploché trubice 2,7 cm a aktivní délce 84 cm je 227 cm² po jedné straně, tedy celkem 454 cm².

Objemy jednotlivých složek byly určeny takto:

Objem povrchové vrstvičky lipidu $V_S = 11 \mu\text{l} = 11 \cdot 10^{-3} \text{ ml} = 1,1 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^3$ (tato hodnota byla odvozena na základě zjištění hmotnosti oplachu exponovaných SPMDs, která činila 10 mg; hustota trioleinu je 0,915 g.cm³).

Objem polyethylenu byl vypočten z rozměrů ploché trubice (84 cm délka, 2,7 cm šířka, 70 μm tloušťka, 2 vrstvy): $V_P = 454 \text{ cm}^2 \cdot 7 \cdot 10^{-3} \text{ cm} = 3,178 \text{ cm}^3$.

Objem trioleinu uvnitř vzorkovače $V_T = 1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3$ (tento objem je dávkován při přípravě SPMDs; ztráta na vytvoření povrchové vrstvičky během expozice byla zanedbána).

Hodnota koeficientu přenosu hmoty mezi vzduchem a povrchovým lipidem je určována difúzní vrstvou sousedící s povrchem lipidu, jejíž tloušťka δ byla odhadnuta na 30 μm . Difúzní koeficient fenanthrenu ve vzduchu byl vypočten pomocí vztahu, který navrhl Tinsley [14] a Schwarzenbach

et al. [15] s využitím tabelované hodnoty difúzního koeficientu vody $D_G(\text{H}_2\text{O}) = 2,57 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ a průměrných molekulových hmotností vody (18 u) a fenanthrenu (178 u):

$$D_{Phe} = D_{\text{H}_2\text{O}} \frac{\sqrt{MW_{\text{H}_2\text{O}}}}{\sqrt{MW_{Phe}}} = 2,57 \times 10^{-5} \frac{\sqrt{18}}{\sqrt{178}} = 8,17 \times 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \quad (25)$$

Hodnota koeficientu převodu hmoty mezi vzduchem a povrchovým lipidem byla pak vyčíslena podle vztahu:

$$\beta = \frac{D_G}{\delta} = \frac{8,17 \cdot 10^{-6}}{30 \cdot 10^{-6}} = 0,27 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1} = 27 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1} \quad (26)$$

Hodnota rychlostní konstanty převodu hmoty pro transport z ovzduší do trioleinu pak je:

$$k_{AS} = \beta_{AS} \times A = 27 \times 454 = 12\,258 \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cong 12 \cdot 10^3 \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1} \quad (27)$$

Hodnota rychlostní konstanty pro opačný směr pak (při aproximaci nedostupné hodnoty rozdělovací konstanty triolein – vzduch hodnotou rozdělovací konstanty *n*-oktanol – vzduch) lze vyčíslit pomocí vztahu:

$$k_{SA} = \frac{k_{AS}}{K_{OA}} = 4,36 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1} \quad (28)$$

Hodnota koeficientu převodu hmoty mezi polyethylenem a trioleinem byla vyjádřena vztahem

$$\beta_{PT} = \frac{D_{Phe,PE}}{\delta_{PE}} \quad (29)$$

Pro vyčíslení byla použita publikovaná hodnota difúzního koeficientu fenanthrenu v nízkohustotním polyethyleny $D_{Phe,PE} = 3 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ [13] a deklarovaná tloušťka stěny PE trubice $\delta_{PE} = 70 \text{ } \mu\text{m}$. Při zohlednění aktivní plochy SPMDs 454 cm^2 lze pak vyčíslit hodnotu rychlostní konstanty převodu hmoty polyethylen-triolein k_{PT} jako:

$$k_{PT} = \beta_{PT} A_P = \frac{D_P A_P}{\delta_P} = 1,95 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1} \quad (30)$$

Hodnotu této konstanty pro opačný směr (a to jak z povrchového lipidu do polyethyleny k_{SP} , tak i z trioleinu do polyethyleny k_{TP}) lze při využití publikované hodnoty rozdělovací konstanty $K_{TP} = 6,3 \pm 0,5$ [13] vyčíslit pomocí vztahu

$$k_{TP} = k_{SP} = \frac{k_{PT}}{K_{TP}} = \frac{1,95 \cdot 10^{-4}}{6,3} = 3,25 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1} \quad (31)$$

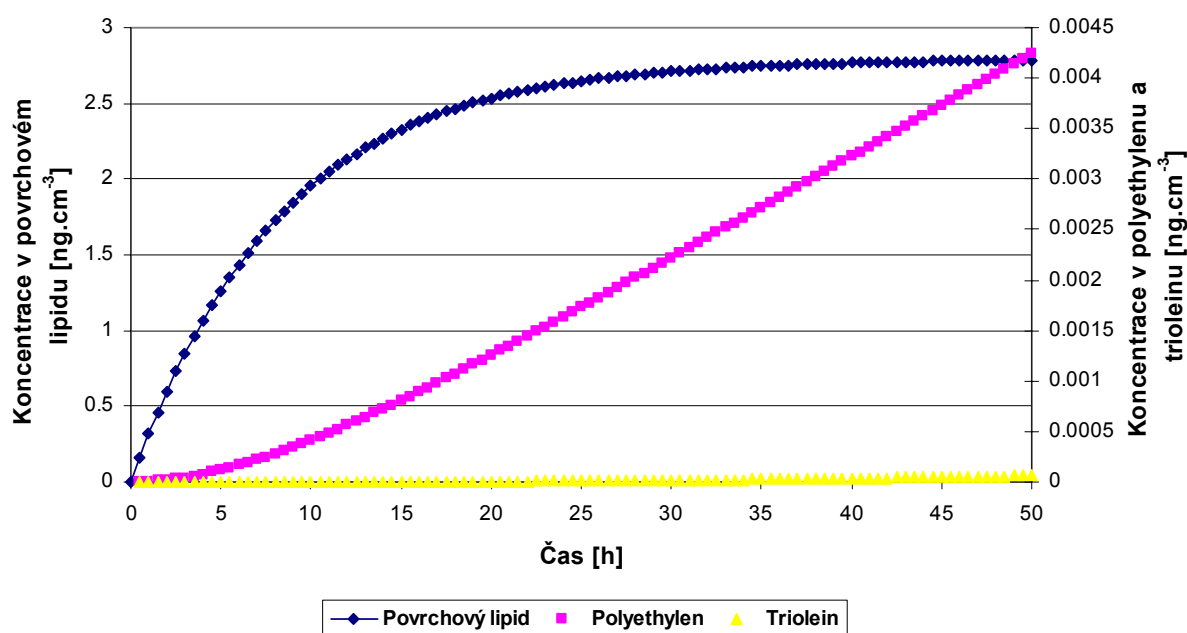
Po dosazení a úpravě lze systém 3 simultánních diferenciálních rovnic převést do tvaru:

$$dC_S = (0,1145 - 3,67 \cdot 10^{-2} C_S + 0,1773 C_P) dt \quad (32)$$

$$dC_P = (9,74 \cdot 10^{-6} C_S - 1,227 \cdot 10^{-4} C_P + 9,74 \cdot 10^{-6} C_T) dt \quad (33)$$

$$dC_T = (1,95 \cdot 10^{-4} C_P - 3,095 \cdot 10^{-5} C_T) dt \quad (34)$$

Tento systém je obtížně řešitelný analyticky, proto bylo využito numerického modelování podle Rungovy-Kuttovy metody [16]. Následující obrázky 7 a 8 ukazují výsledky získané pro fenanthren při pseudokonstantní koncentraci v okolním vzduchu $1 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$: na obr. 7 je modelovaná časová závislost jeho koncentrace v povrchovém lipidu a v polyethylenu v časovém horizontu 50 hodin a na obr. 8 je pak uvedena stejná závislost pro polyethylen a triolein v časovém horizontu 1000 hodin (cca 42 dnů).

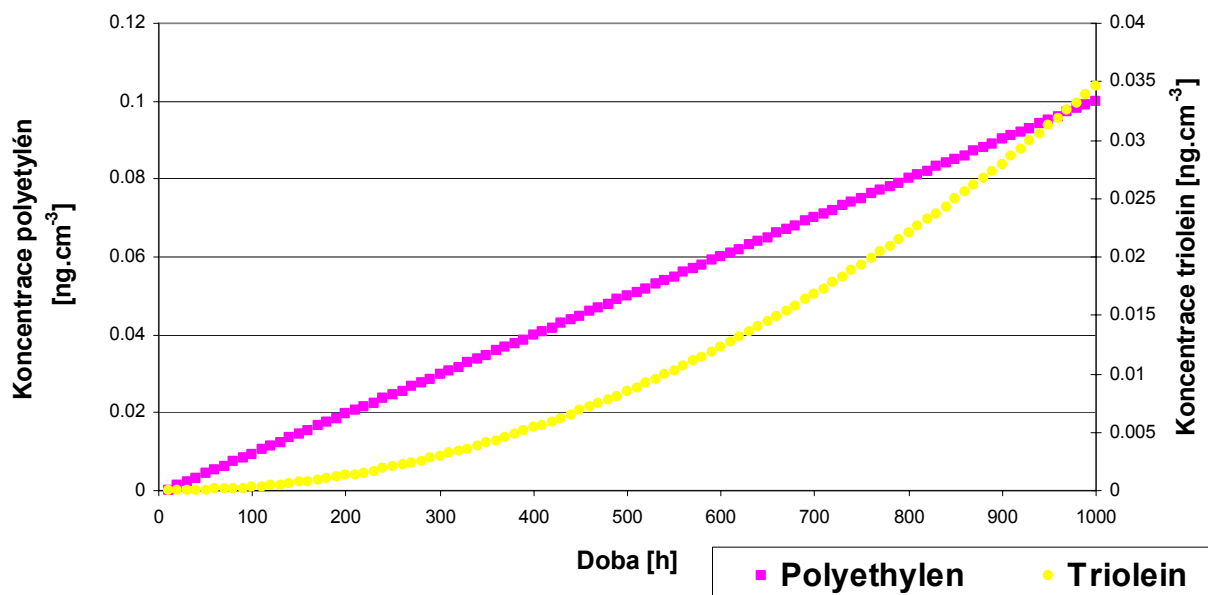


Obr. 7: Modelovaná časová závislost koncentrace fenantrenu v povrchovém lipidu, polyethylenu a trioleinu pasivního vzorkovače typu SPMD

Pro praktické vzorkování pomocí SPMDs lze z výsledků matematického modelování vyvodit následující závěry:

1. Povrchová vrstvička lipidu se poměrně rychle – prakticky během 24 hodin – dostává do rovnováhy s okolním prostředím, takže není v integrativním režimu; přitom obsah sloučenin v ní není zanedbatelný a je proto žádoucí ji před analýzou odstranit pomocí vhodného organického rozpouštědla.

2. K dalšímu zpracování je vhodné použít jak triolein, tak i polyetylen; obě tyto složky integrativní režim zachovávají [17].



Obr. 8: Modelovaná časová závislost koncentrace fenantrenu v povrchovém lipidu, polyethylenu a trioleinu pasivního vzorkovače typu SPMD

3 VYSOKOMOLEKULÁRNÍ POLYAROMATICKÉ UHLOVODÍKY

Polycyklické aromatické uhlovodíky (dále v textu PAHs, jinak též PAH, PAU, PAC, POH) jsou významnou třídou skupiny tzv. perzistentních organických polutantů (POPs), tj. kontaminantů vyznačujících se vysokou odolností a stabilitou proti působení chemických, fyzikálních a biologických účinků okolí, schopných dlouhodobě přežít, cirkulovat a kumulovat se v ekosystémech, ve kterých jsou stabilní. Jejich struktura je tvořena dvěma a více kondenzovanými benzenovými jádry. Tyto sloučeniny vznikají při nedokonalém spalování organické hmoty; lze tedy oprávněně předpokládat, že spatřily světlo světa podstatně dříve než prapředkové druhu Homo Sapiens. Dokladem jejich všudypřítomnosti je i skutečnost, že byly nalezeny důkazy jejich přítomnosti v mezihvězdném prostoru [18]. Člověk byl jejich expozici vystaven odpradáva, a to v míře nikoliv zanedbatelné vzhledem k přebývání v jeskyních s otevřeným ohněm a konzumaci masa uzeného v dýmu pocházejícím rovněž z otevřeného ohniště. V novodobé historii začala být narůstající koncentrace těchto sloučenin v životním prostředí vnímána jako problém vyskytnuvší se v období průmyslové revoluce, kdy výrazně vzrostlo využívání fosilních paliv. Polyaromatické uhlovodíky se vesměs nevyznačují toxicitou ani nejsou karcinogenní; tuto vlastnost vykazují až produkty jejich metabolické přeměny v živých organismech. Jejich škodlivé účinky jsou známy již poměrně dlouhou dobu – například karcinogenita dibenzo[a,h]anthracenu byla prokázána již v roce 1930.

Na seznamu prioritních polutantů vydaném US EPA je uvedeno 16 zástupců skupiny polyaromatů, které se zpravidla dělí do 3 skupin:

- nízkomolekulární PAU (128-178 g.mol⁻¹) – naftalen, acenaften, acenaftylen, anthracen, fenantren, fluoren
- středněmolekulární PAU (202 g.mol⁻¹) – fluoranthen, pyren
- vysokomolekulární PAU (228-278 g.mol⁻¹) – benzo[a]anthracen, benzo[a]pyren, benzo[b]fluoranthen, benzo[k]fluoranthen, benzo[ghi]perylene, chrysen, dibenzo[a,h]anthracen, indeno[1,2,3-cd]pyren

Polyaromáty molekulových hmotností přes 278 g.mol⁻¹ nejsou ve výše zmíněném seznamu zahrnuty; důvodem je mimo jiné i skutečnost, že tyto sloučeniny nebyly považovány za schopné dálkového transportu. Určitý vliv mohly mít možnosti analytických technik; nejtěžší PAHs ze seznamu US EPA (tj s molekulovou hmotností 278 amu) eluují z kapilárních kolon při teplotách okolo 300 °C, případně ze systémů s obrácenými fázemi v kapalinové chromatografii na konci binárního gradientu voda-acetonitril v čistém acetonitrilu. K eluci ještě těžších sloučenin je zapotřebí buď pracovat v plynové chromatografii s teplotními programy zhruba do 450 °C, nebo v kapalinové chromatografii použít systému obrácených fází s nevodnými gradienty. Dalším komplikujícím faktorem je pak strukturní bohatost této podskupiny polyaromátů.

Přítomnost PAHs těžších než 278 amu byla již prokázána v nejrůznějších matricích, jako například asfalt, saze, ale také polétavý prach z městského ovzduší [19] a surová ropa [20]. Biologická aktivita těchto sloučenin je velmi významná - dibenzo[a,l]pyren vykazuje pětadvacetkrát vyšší karcinogenní aktivitu než benzo[a]pyren [21]; až 50% z celkové karcinogenní aktivity v extraktu z odpadu vzniklého při spalování uhlí je připisováno PAHs s molekulovou hmotností 300 amu a výše [22].

Pro potraviny došlo v nedávné minulosti ke změně legislativy, která vychází z Nařízení komise (ES) č. 208/2005 ze dne 4. února 2005, kterým se mění nařízení (ES) č. 466/2001, pokud jde o polycyklické aromatické uhlovodíky.

Vědecký výbor pro potraviny dospěl ke stanovisku, že řada polycyklických aromatických uhlovodíků je genotoxickými karcinogeny. Jako indikátor lze využít benzo[a]pyren, a to pro benzo[a]anthracen, benzo[b]fluoranthen, benzo[j]fluoranthen, benzo[k]fluoranthen, benzo[ghi]perylene, chrysen, cyklopenta[cd]pyren, dibenzo[ah]anthracen, dibenzo[a,e]pyren, dibenzo[a,h]pyren, dibenzo[a,i]pyren, dibenzo[a,l]pyren, indeno[1,2,3-cd]pyren a 5-methylchrysen, ovšem až po provedení dalších analýz příslušných podílů těchto PAHs v potravinách. V zájmu ochrany veřejného zdraví je nutno stanovit maximální limity pro benzo[a]pyren v některých potravinách, které obsahují tuky a oleje, a v potravinách, u kterých sušení nebo uzení může přivodit vysokou úroveň kontaminace. Maximální limity jsou rovněž nutné u potravin, u kterých může být příčinou vysoké kontaminace znečištění životního prostředí. Jedná se především o ryby a produkty rybolovu, které mohou být potenciálně kontaminovány úniky paliv z motorových lodí nebo haváriemi tankerů.

Výskyt polycyklických aromatických uhlovodíků s molekulovou hmotností převyšující 278 amu byl sledován v areálu továrny DEZA, a.s. ve Valašském Meziříčí a v jejím blízkém okolí. Výstavba tohoto podniku byla zahájena roku 1960 a o 3 roky později zde byl zahájen provoz. Hlavní zpracovávanou surovinu představuje benzol a černouhelný dehet, vznikající jako odpad při koksování černého uhlí v nedaleké Ostravě; mezi významné produkty zde patří i vybrané polyaromatické uhlovodíky. V počátcích provozování závodu DEZA byla péče o životní prostředí dosti zanedbávána, důsledkem čehož je dosud přetrvávající masivní kontaminace areálu závodu a jeho blízkého okolí vstupními surovinami, meziprodukty i finálními produkty.

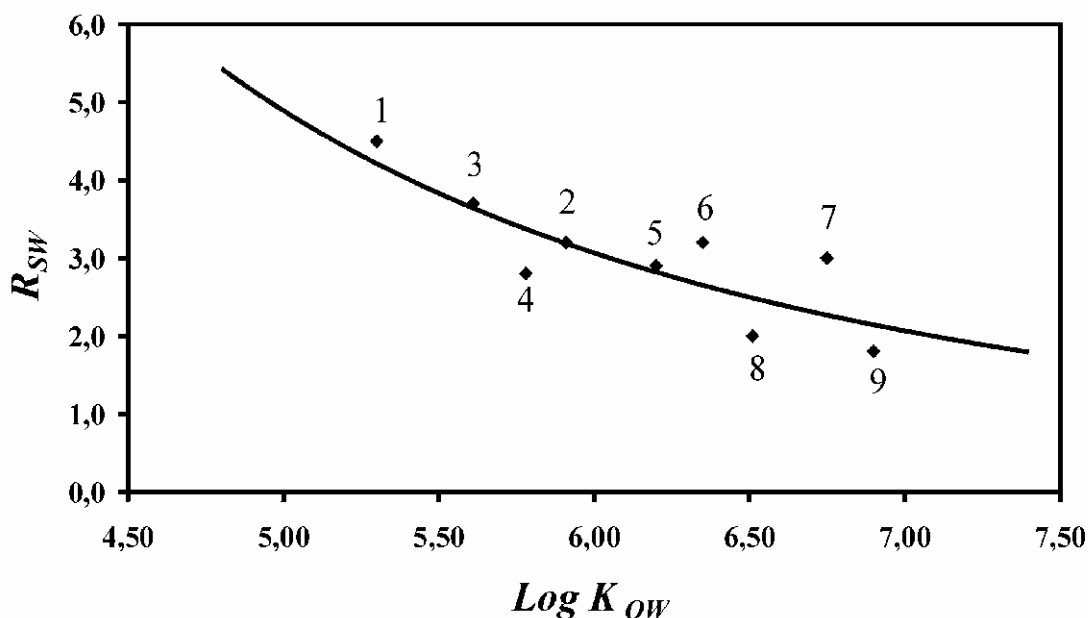
Byla studována distribuce těchto látek v ovzduší, vodách a v půdě jak v areálu závodu DEZA, tak i v jeho blízkém okolí. Pro vzorkování vod a pracovního i volného ovzduší byla zvolena osvědčená technologie pasivních vzorkovačů typu SPMDs, půdy byly odebrány bodově standardním postupem. Pro rychlé vyhodnocení distribuce polyaromátů v odebraných vzorcích bylo použito techniky hmotnostní spektrometrie s ionizací a desorpčí UV-laserem (LDI-TOF);

podle vědomí autora to bylo první využití příslušné techniky k uvedenému účelu v rámci ČR [23]. Ve zmíněné publikaci jsou rovněž první kvalitativní i kvantitativní informace o výskytu těchto sloučenin v areálu závodu DEZA. Je však třeba podotknout, že u této publikace byly opravdu kvantitativní údaje zpracovány pouze pro vzorky půd, kdy jako finální analytické metody bylo použito systému LC/MS, v němž kapalinově chromatografická separace probíhala v systému obrácených fází s nevodným binárním gradientem acetonitril-dichlormethan a k detekci byl využit UV-VIS detektor typu DAD a hmotnostní spektrometr s chemickou ionizací za atmosférického tlaku. U vod a ovzduší zůstalo, vzhledem k nedostupnosti příslušných hodnot vzorkovacích rychlostí pro těžké polyaromáty, jen u vyjádření množství jednotlivých látek nalezených v exponovaných vzorkovačích.

Kvantitativní zpracování těchto dat je uvedeno v další publikaci [24]. Protože možnost experimentálního zjištění hodnot vzorkovacích rychlostí pro těžké polyaromáty s molekulovou hmotností nad 278 amu byla v podstatě vyloučena, byla k jejich odhadu využita korelace hodnot vzorkovacích rychlostí polyaromátů a logaritmu rozdělovacího koeficientu *n*-oktanol – voda $\log K_{OW}$. Vzhledem k tomu, že tato závislost je poněkud komplikovaná - má stoupající trend od dvoujaderných ke čtyřjaderným polyaromátům, potom opět klesá k šesti- a sedmi- jaderným PAHs - použili jsme pouze její monotónně klesající část od čtyřjaderného pyrenu s molekulovou hmotností 202 amu po šesti- a sedmi- jaderný dibenzo[a,h]anthracen s molekulovou hmotností 278 amu. Na základě publikovaných hodnot vzorkovacích rychlostí pro polyaromáty v tomto rozsahu ve vodě [5] a publikovaných hodnot $\log K_{OW}$ [25] byla regresní analýzou odvozena závislost

$$R_{S(w)} = 302,33 \times (\log K_{OW,i})^{-2,5622} \quad R = 0,7983 \quad (35)$$

Její grafické znázornění je na obr. 9.

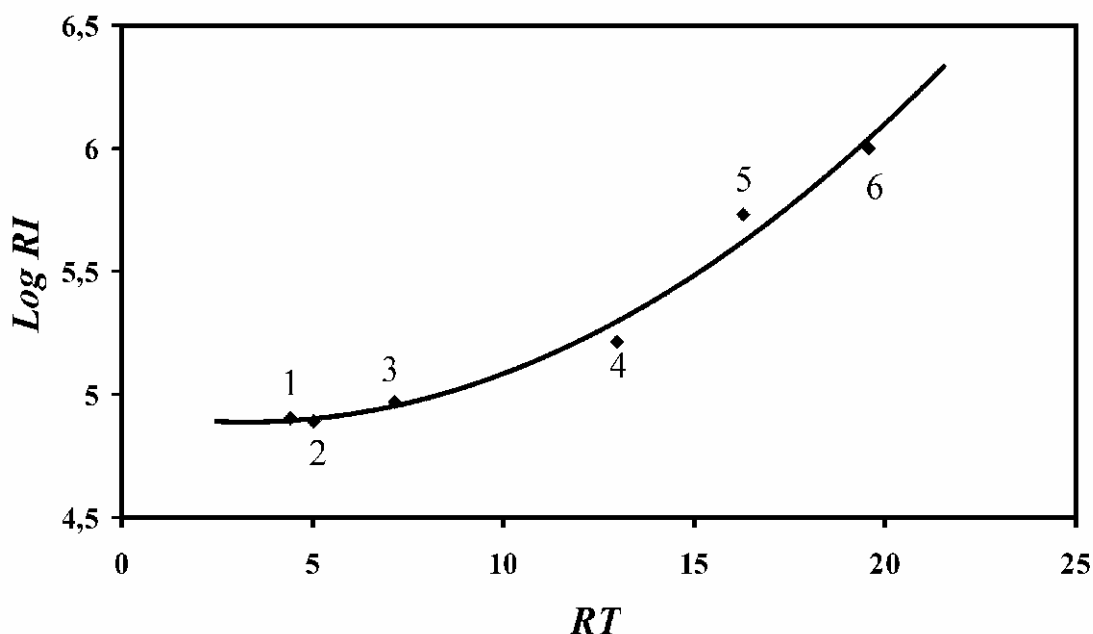


Obr. 9: Závislost mezi $\log K_{OW}$ a hodnotami vzorkovacích rychlostí ve vodě R_{SW} pro PAHs. Sloučeniny: 1: pyren; 2: benzo[a]anthracen; 3: chrysen; 4: benzo[b]fluoranthren; 5: benzo[k]fluoranthren; 6: benzo[a]pyren; 7: indeno[1,2,3-cd]pyren; 8: dibenzo[a,h]anthracen; 9: benzo[g,h,i]perylene

Pro vyčíslení odhadu hodnot vzorkovacích rychlostí vysokomolekulárních polyaromátů ve vodě bylo zapotřebí doplnit chybějící hodnoty $\log K_{OW}$, neboť z celkového počtu dvanácti sledovaných sloučenin s rozsahem molekulových hmotností od 300 do 450 amu byly tyto hodnoty publikovány pouze pro pět polyaromátů. K jejich odhadu jsme využili publikované korelace $\log K_{OW}$ a logaritmičeských retenčních indexů RI v kapalinové chromatografii [26,27] ve tvaru

$$\log K_{OW} = 1.2368 \times \log RI + 0.8657 \quad R = 0.9734 \quad (36)$$

Grafické znázornění této závislosti je na obr. 10.



Obr. 10: Závislost logaritmičeských retenčních indexů PAHs $\log RI$ a korigovaných retenčních časů RT pro PAHs. Sloučeniny: 1: benzo[a]perylen; 2: dibenzo[a,l]pyren; 3: dibenzo[a,e]pyren; 4: coronen; 5: dibenzo[a,i]pyren; 6: dibenzo[a,h]pyren

Logaritmičeské retenční indexy byly odvozeny způsobem analogickým vyhodnocení Kovátsových retenčních indexů v plynové chromatografii, a to na základě hodnot korigovaných retenčních veličin při izokratické eluci, přičemž jako standardy byly využity benzen (hodnota $RI = 10$), naftalen ($RI = 100$), fenanthren ($RI = 1\ 000$), benzo[a]anthracen ($RI = 10\ 000$) a benzo[b]chrysen ($RI = 100\ 000$) [28,29]. Protože využití izokratické eluce by bylo v našich podmínkách mimořádně komplikované a časové nároky těchto experimentů by byly neúměrné, byl regresní analýzou odvozen vztah pro výpočet hodnot logaritmičeských retenčních indexů v izokratických podmínkách na základě jejich retenčních časů při gradientové eluci v našich podmínkách [26,27]:

$$\log RI_i = 0.004322 \times RT_i^2 - 0.0281 \times RT_i + 4.9331 \quad R = 0.9908 \quad (37)$$

S využitím rovnic (36) a (37) byly pak vyčísleny chybějící hodnoty $\log K_{OW}$ a pomocí rovnice (35) odhadnuty vzorkovací rychlosti ve vodě pro příslušné sloučeniny.

K odhadu hodnot vzorkovacích rychlostí těžkých polyaromátů ve vzduchu byl využit jednoduchý vztah založený na intermediálním přepočítacím koeficientu [30]:

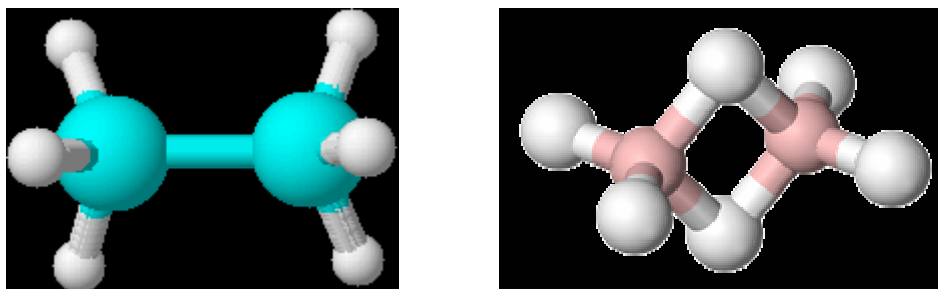
$$R_{S,A} = \frac{3000 \text{ l.den}^{-1}}{6,5 \text{ l.den}^{-1}} R_{S,W} \quad (38)$$

Takto odvozené hodnoty byly pak využity ke kvantitativnímu vyhodnocení průměrného obsahu těžkých polyaromátů v prostředí vzorkovaném pomocí pasivních vzorkovačů typu SPMDs [24].

4 ANALÝZA KLASTROVÝCH SLOUČENIN BORU

Problematika analýzy klastrových sloučenin boru pomocí hmotnostní spektrometrie sice přímo nesouvisí s analytikou životního prostředí, nicméně je zde prezentována, neboť z několika vzorků, analyzovaných uchazečem víceméně náhodou, a to za účelem ověření možností využití hmotnostní spektrometrie na sférické iontové pasti s ionizací elektrosprejem při identifikaci těchto sloučenin, se vyvinula stabilní spolupráce, která vyústila v grantový projekt řešený u Grantové agentury AVČR od roku 2007. Na řešení tohoto projektu spolupracují tři instituce a uchazeč je odpovědným řešitelem a koordinátorem tohoto grantového projektu. Kromě toho se tato problematika ukázala být velmi zajímavou z hmotnostně spektrometrického hlediska.

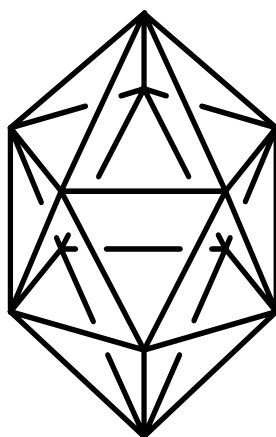
Bor náleží k několika elementům, které mohou tvořit binární hydridy – borany – s větším počtem atomů boru v molekule, obdobně jako jeho soused v periodické tabulce, uhlík. V porovnání s ním má však ve valenční sféře o jeden elektron méně. Přesto, porovnáme-li nejjednodušší hydridy uhlíku a boru, tedy ethan a diboran, jejich sumární vzorce jsou překvapivě naprosto analogické, tedy C_2H_6 a B_2H_6 . To je možné pouze díky jinému typu vazby, který se v boranech uplatňuje a který umožňuje překonat nedostatek vazebných elektronů. Zatímco u alkanů existují výhradně vazby dvouelektronové spojující 2 atomy (tzv. dvoucentrové dvouelektronové, 2c2e), v boranech se kromě tohoto typu vyskytuje i chemická vazba tvořená dvěma elektrony, avšak spojující 3 centra (třícentrová dvouelektronová, 3c2e). Tato vazba může spojit 2 atomy boru a atom vodíku (BHB), který bývá označován jako můstkový vodík, nebo 3 atomy boru (BBB). To se samozřejmě projeví i na struktuře sloučenin obsahujících řetězce příslušných atomů, jak je zřejmé z obr. 13.



Obr. 13: Strukturální vzorce ethanu (vlevo) a diboranu (vpravo)

V molekule diboranu jsou čtyři vazby bor-vodík typu 2c2e a dvě vazby 3c2e typu BHB s můstkovými vodíky. Rozdíl ve struktuře je daleko markantnější u sloučenin s vyšším počtem atomů uhlíku nebo boru; zatímco sloučeniny na bázi uhlíku tvoří řetězce, případně planární cykly, architektura vyšších boranů je založena na klastrové struktuře charakterizované trojrozměrným skeletem s trojúhelníkovými plochami. Na obr. 14 je uvedena struktura boranu sumárního vzorce $B_{12}H_{12}^{2-}$, který kromě 2c2e vazeb spojujících bor a vodík (na obrázku nejsou pro přehlednost

zakresleny, ale ke každému vrcholu dvanáctistěnu tvořeného atomem boru je vázán jeden atom vodíku) obsahuje 3c2e vazby pouze typu BBB.

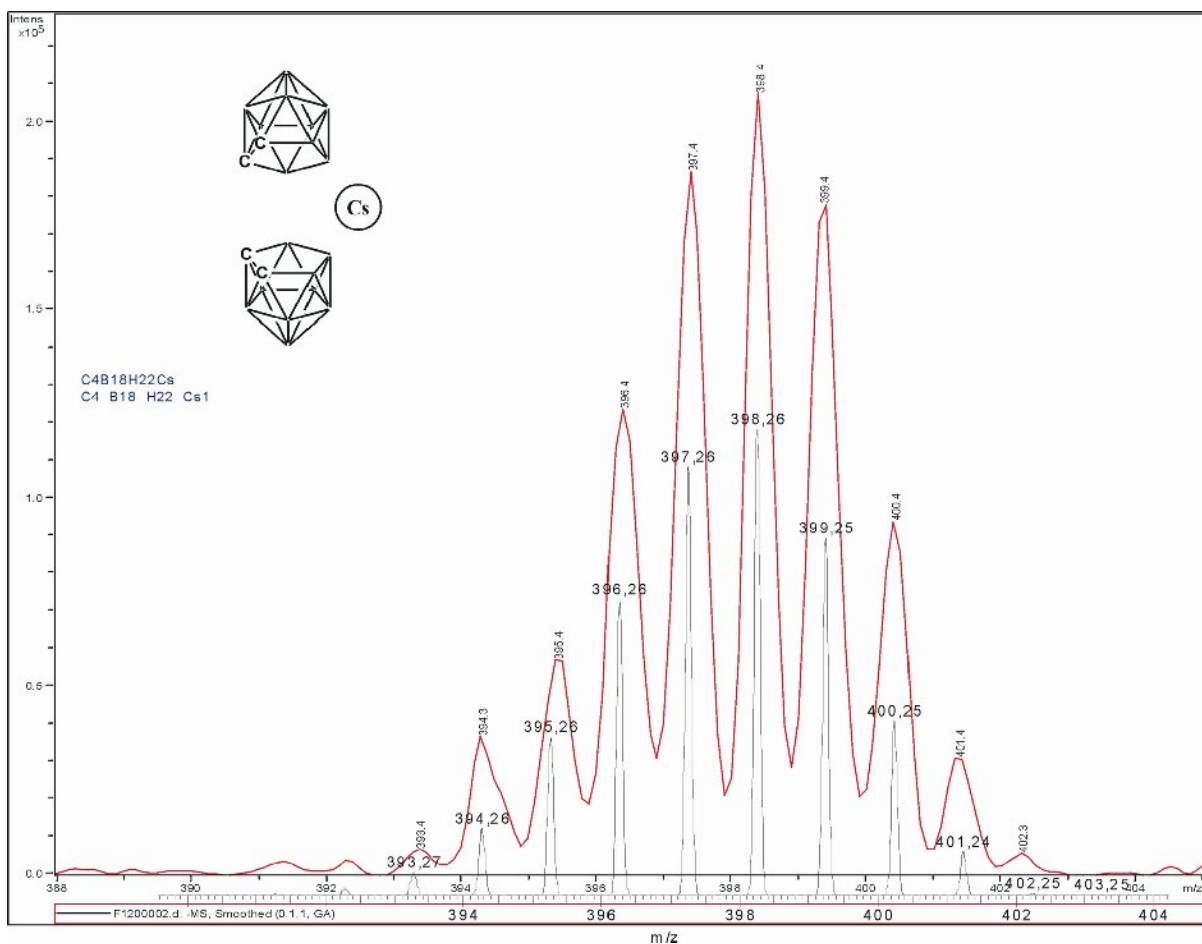


Obr. 14: B₁₂H₁₂²⁻

Borany jsou čistě syntetické sloučeniny, které se v přírodě nevyskytují. Jedinou sloučeninou boru známou lidstvu po staletí byl borax; doklady o jeho existenci lze vystopovat až do 8. st. n. l. Počátek chemického výzkumu boru pak lze položit do roku 1702, kdy William Homberg smíchal borax se síranem železnatým, čímž došlo k uvolnění kyseliny borité [31].

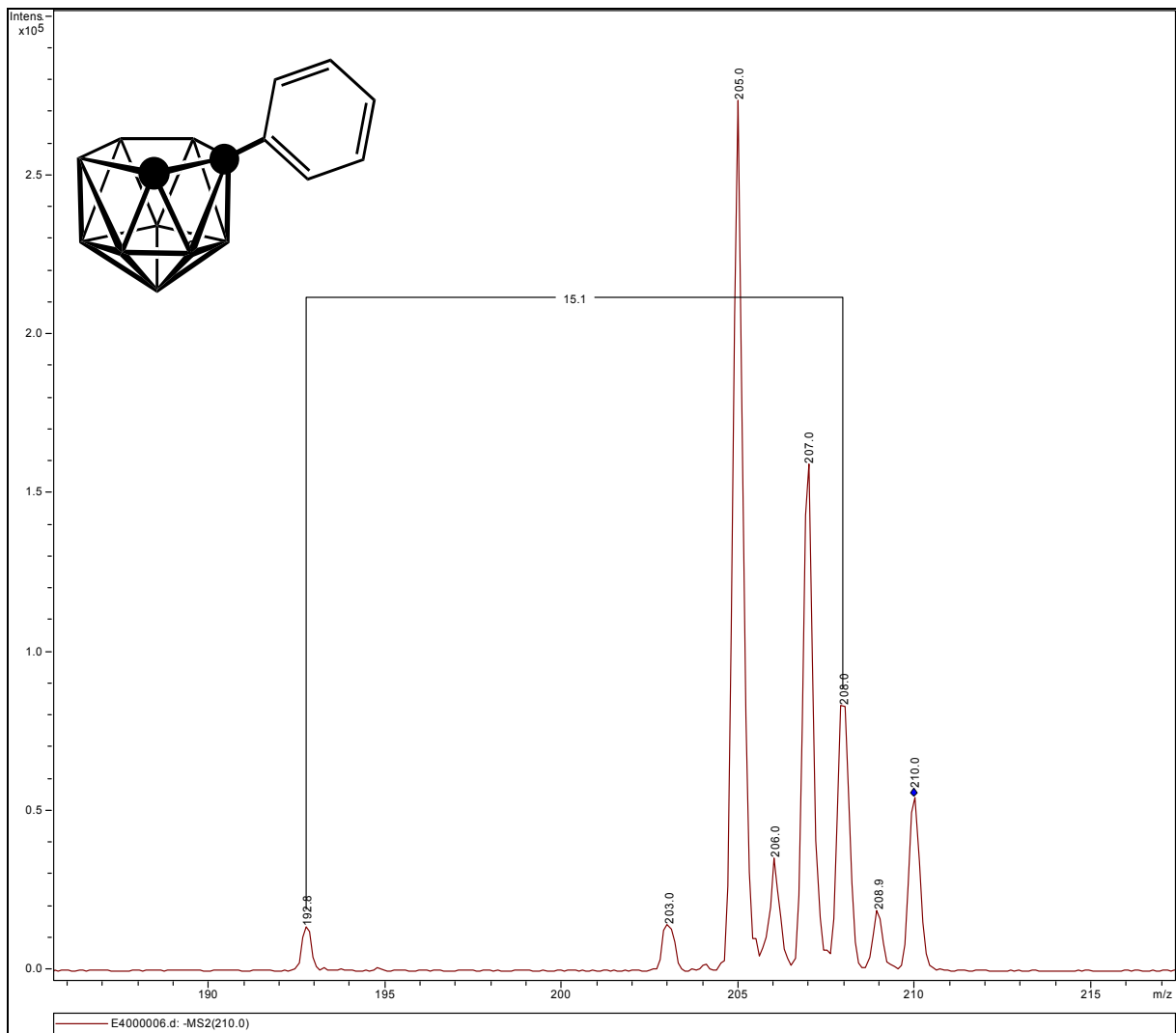
Významným impulsem v rozvoji chemie boru se stala léta po 2. světové válce, kdy hlavním motivem bylo hledání vysokoenergetického paliva pro proudové a raketové motory s vyšším obsahem energie než paliva na bázi uhlovodíků [32]. Vzhledem k toxicitě produktů hoření boranů byl tento projekt posléze zavržen, nicméně borany a jejich deriváty našly uplatnění v řadě poměrně významných aplikací nejrůznějšího druhu – například v medicíně při léčbě nádorových onemocnění ozařováním (BNCT – Boron Neutron Capture Therapy) [33], jako katalyzátory [34] nebo při selektivní extrakci radionuklidů pro snížení aktivity vyhořelých palivových článků z jaderných elektráren před jejich uložením [35]. Mezi perspektivní účinky látek tohoto typu popsané v poslední době patří též inhibice proteázy viru HIV [36].

Borany a heteroborany (zejména tzv. karborany, u kterých došlo k nahrazení jednoho nebo několika atomů boru ve skeletu boranu uhlíkem) jsou v naší republice systematicky studovány v Ústavu anorganické chemie AVČR v Řeži u Prahy. Základní využití hmotností spektrometrie na sférické iontové pastě s ionizací elektrosprejem spočívalo v potvrzení předpokládané struktury produktů syntéz a v identifikaci případných nečistot. V režimu jednostupňové hmotnostní spektrometrie lze efektivně využívat charakteristických multipletů molekulových nebo fragmentových iontů způsobených izotopickou distribucí boru, na jejichž základě lze často potvrdit počet atomů boru v dané molekule a verifikovat předpokládanou strukturu s dostatečnou spolehlivostí. Příklad uvádí obr. 15.



Obr. 15: Porovnání experimentálního spektra (červená čára) a simulovaného spektra (šedá čára) pro sloučeninu $C_4B_{18}H_{22}Cs$

Pro identifikaci nečistot v reakčních směsích, vedlejších produktů a případně i hlavních produktů v případech, kdy reakce neproběhla očekávaným způsobem, bylo předpokládáno využití tandemové (MS/MS) nebo vícestupňové (MS^n) hmotnostní spektrometrie, která je velmi účinným prostředkem pro identifikaci organických látek. Jak ale naznačují dosud provedené experimenty, u boranů bude situace poněkud složitější; nelze se zde opírat o dobře propracovaná fragmentační pravidla organických sloučenin s uhlíkatými řetězci. Jeden z důkazů tohoto tvrzení je uveden na obr. 16, kde je produktové hmotnostní spektrum heteroboranu obsahujícího 2 atomy uhlíku v pozicích 7 a 8 skeletu (7-fenyl-*nido*-7,8- $C_2B_9H_{11}^{-1}$). Jedinou pozorovatelnou fragmentací zvoleného prekursoru m/z 210 bylo, kromě nespécifických eliminací protonu, odštěpení atomu uhlíku z karboranového skeletu, avšak k odštěpení fenylového substituentu vůbec nedocházelo; přitom tato fragmentace by u organických sloučenin byla pravděpodobně významná.



Obr. 16: MS/MS spektrum karboranu 7-fenyl-*nido*-7,8- $C_2B_9H_{11}^{-1}$, zvolený prekurzor m/z 210. Atomy uhlíku jsou ve strukturním vzorci označeny jako černé body.

Příčinu lze hledat zřejmě ve stabilizaci fenylové skupiny delokalizovanými elektrony na elektronově deficitním karboranovém skeletu. Potvrzení tohoto předpokladu je v současnosti předmětem dalšího ověřování.

Poznatky získané při využití hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem pro identifikaci boranů a karboranů byly již rovněž publikovány [37-39].

5 METODICKÝ ROZVOJ A VYUŽITÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S MĚKKÝMI IONIZAČNÍMI TECHNIKAMI

V povědomí odborné chemické veřejnosti je hmotnostní spektrometrie tradičně známa jako velmi efektivní technika vhodná pro identifikaci neznámých látek pomocí porovnání změřeného hmotnostního spektra s knihovnou, aniž by bylo zapotřebí disponovat příslušným standardem. K tomuto náhledu zřejmě nejvíce přispělo velmi rozšířené spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Je ovšem zapotřebí zdůraznit, že výše uvedené tvrzení platí pouze při použití elektronové ionizace, což je tvrdá ionizační technika vyvolávající poměrně rozsáhlou fragmentaci ionizovaných specií. Tato fragmentace je reprodukovatelná na různých přístrojích, což je základním předpokladem vytváření přenositelných knihoven hmotnostních spekter.

Poslední období vývoje hmotnostní spektrometrie je ovšem charakterizováno nástupem měkkých ionizačních technik, které umožňují ionizovat i kapalné a pevné vzorky, přičemž fragmentace je díky šetrné ionizaci minimální. Ve spektru je pak vidět pouze pík nesoucí informaci o molekulové hmotnosti ionizované sloučeniny, tzv. kvazimolekulární pík, který vzniká adukcí (případně abstrakcí) protonu z ionizované molekuly, případně adukcí kationu, nejčastěji Na^+ , K^+ , které díky jejich všudypřítomnosti většinou ani není nutné přidávat k ionizovaným roztokům. Za použití měkkých ionizačních technik lze analyzovat i směsi látek; každý pík pak odpovídá látce příslušné hmotnosti a takovéto spektrum spíše připomíná chromatogram s osou x v jednotkách m/z . K identifikaci však nemusí být určení molekulové hmotnosti dostačující. Pro získání hmotnostního spektra se v těchto případech využívá dalších technik – například tzv. fragmentorů, které jsou založeny na využití vyššího potenciálového spádu mezi výstupem z přestupní kapiláry a 1. skimmerem, nebo je využíváno tandemové hmotnostní spektrometrie s izolací zvoleného iontu (prekurzoru), jeho fragmentaci a registraci produktového spektra. Vzhledem k variabilitě experimentálních podmínek těchto měření je však vytváření přenositelných knihoven spekter, využitelných pro identifikační účely, velmi obtížné až nemožné.

Byl realizován pokus o vytvoření algoritmu k řešení tohoto problému. Navržený postup je založený na měření produktových spekter při třech kolizních energiích, které jsou upraveny podle vlastností použitého přístroje. Základní kolizní energie X se nastaví tak, aby intenzita prekurzoru byla 12 % intenzity hlavního produktového iontu. Za těchto podmínek je změřeno hlavní knihovní spektrum. Dvě doplňková knihovní spektra jsou pak sejmuta při nižší kolizních energiích $2/3 X$ a $4/3 X$. Výsledná spektra jsou pak přenositelná mezi všemi přístroji nezávisle na typu iontového zdroje a použitého analyzátoru. Tento model byl ověřen pro více než 50 polysulfonovaných barviv na přístrojích využívajících sedm různých typů analyzátorů (tři iontové pasti, dva trojitě kvadrupoly, dva hybridní přístroje kombinující kvadrupol a průletový analyzátor); všechna spektra byla snímána v negativním modu [40].

Spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií má rovněž velmi široký aplikační potenciál pro identifikaci neznámých složek směsí. V porovnání se standardním spojením GC/MS je zde komplikujícím faktorem právě nemožnost vytváření přenositelných knihoven. Pro identifikaci je pak nutné využívat tandemové hmotnostní spektrometrie a naměřená spektra je zapotřebí ručně interpretovat, což může být komplikovaná a časově náročná činnost.

Praktickou aplikací metody LC/MS je identifikace a kvantifikace steviosidů extrahovaných z listů *Stevia rebaudiana* technikou tlakové extrakce při využití vody a methanolu jako extraktantů [41].

6 ZÁVĚR

V předložené habilitační práci jsou shrnuty odborné aktivity uchazeče v oblasti využití pasivního vzorkování a hmotnostní spektrometrie zahrnující období zhruba posledních 15 let. Pasivní vzorkování představuje v oblasti analýzy organických polutantů ve vodách i v ovzduší velmi perspektivní metodu, o čemž svědčí stále vzrůstající počty publikací s touto tematikou a rovněž i nové typy pasivních vzorkovačů, které jsou navrhovány a úspěšně využívány v řadě praktických aplikací, zejména pak při monitorování ovzduší i vod. Hmotností spektrometrie pak představuje nejdůležitější spektrometrickou techniku environmentální analýzy, a to zejména v tandemových systémech, kde vystupuje v roli nesmírně citlivé a flexibilní detekční techniky pro separační metody. Využití vícestupňové hmotnostní spektrometrie pak přináší výrazné zvýšení selektivity a robustnosti celého analytického systému a významně snižuje nároky na předchozí zpracování vzorku. Z tohoto pohledu je hmotnostní spektrometrie pro současnou analytiku životního prostředí jedinečná a nenahraditelná.

Jak metody pasivního vzorkování organických polutantů v životním prostředí, tak i technika hmotností spektrometrie jsou v současnosti uchazečem využívány v rámci odborného i pedagogického působení.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] B.A. Byrne, R.I. Aylott, British Patent No. 1566253 (1980).
- [2] A. Sodergren, *Environmental Science and Technology* 21 (1987) 855.
- [3] J.N. Huckins, M.W. Tubergen, G.K. Manuweera, *Chemosphere* 20 (1990) 533.
- [4] J.N. Huckins, G.K. Manuweera, J.D. Petty, D. Mackay, J.A. Lebo, *Environmental Science and Technology* 27 (1993) 2489.
- [5] J.N. Huckins, J.D. Petty, C.E. Orazio, J.A. Lebo, R.C. Clark, V.L. Gibson, W.R. Gala, K.R. Echols, *Environ. Sci. Technol.* 33 (1999) 3918.
- [6] K. Booij, H.E. Hofmans, C.V. Fischer, E.M. Van Weerlee, *Environmental Science & Technology* 37 (2003) 361.
- [7] I. Holoubek, J. Čáslavský, P. Kořínek, K. Štaffová, J. Kohoutek, A. Hrdlička, *Polycyclic Aromatic Compounds* 9 (1996) 159.
- [8] J. Čáslavský, Z. Zdráhal, M. Vytopilová, *Polycyclic Aromatic Compounds* 20 (2000) 123.
- [9] J.N. Huckins, J.D. Petty, C.E. Orazio, J.L. Zajicek, V.L. Gibson, R.C. Clark, K.R. Echols, *Proc. of 15. Annual Meeting, Society of Environmental Toxicology and Chemistry*, 30. October - 3. November 1994, Denver, CO, Abstract MB01 (1994).
- [10] A.-L. Rantalainen, T. Hyötyläinen, M. Saramo, I. Niskanen, *Toxicological and Environmental Chemistry* 68 (1999) 335.
- [11] J. Čáslavský, P. Kotlaříková, K. Benešová, *Environ. Chem. Lett.* 2 (2004) 89.
- [12] J.F. Pankow, *Atmospheric Environment* 21 (1987) 2275.
- [13] R.W. Gale, *Environmental Science & Technology* 32 (1998) 2292.
- [14] I. Tinsley, *Chemical concepts in pollutant behaviour*, John Wiley & Sons, New York, 1979.
- [15] R. Schwarzenbach, P. Gschwend, D. Imboden, *Environmental organic chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 1993.
- [16] P. Příkryl, *Numerické metody matematické analýzy*, SNTL, Praha, 1985.
- [17] J. Čáslavský, P. Kotlaříková, K. Benešová, in *4th European Meeting on Environmental Chemistry (EMEC4)*, University of Plymouth, Plymouth (England), 2003.
- [18] L.J. Allamandola, A. Tielens, J.R. Barker, *Astrophysical Journal* 290 (1985) L25.
- [19] C.H. Marvin, R.W. Smith, D.W. Bryant, B.E. McCarry, *Journal of Chromatography A* 863 (1999) 13.

- [20] B.R.T. Simoneit, J.C. Fetzer, *Organic Geochemistry* 24 (1996) 1065.
- [21] J.L. Durant, A.L. Lafleur, W.F. Busby, L.L. Donhoffner, B.W. Penman, C.L. Crespi, *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 446 (1999) 1.
- [22] G. Grimmer, H. Brune, R. Deutschwenzel, G. Dettbarn, J. Misfeld, U. Abel, J. Timm, *Cancer Letters* 23 (1984) 167.
- [23] J. Čáslavský, P. Kotlaříková, in E. Lichtfouse, J. Schwarzbuer (Editors), *Environmental Chemistry: Green Chemistry and Pollutants in Ecosystems*, Springer, Berlin-Heidelberg, 2005.
- [24] J. Čáslavský, P. Kotlaříková, *Polycyclic Aromatic Compounds* 23 (2003) 327.
- [25] D. Mackay, W.-Y. Shiu, K.C. Ma, *Illustrated Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate of Organic Compounds.*, Lewis/CRC, Boca Raton, 1992.
- [26] M.M.C. Ferreira, *Chemosphere* 44 (2001) 125.
- [27] L.C. Sander, S.A. Wise, *Advances in Chromatography* 25 (1986) 139.
- [28] M. Popl, V. Dolansky, J. Mostecky, *J. Chromatogr.* 91 (1974) 649.
- [29] M. Popl, V. Dolansky, J. Mostecky, *J. Chromatogr.* 117 (1976) 127.
- [30] H.F. Prest, L.A. Jacobson, J.N. Huckins, *Chemosphere* 30 (1995) 1351.
- [31] V. Bartow, in R.F. Gould (Editor), *Advances in chemistry*, American Chemical Society, Washington, D.C., 1961, p. 5.
- [32] I.C. Smith, R.J. Hughes, W.H. Lawless, *Production of boranes and related research*, Academic Press, New York, 1967.
- [33] A.H. Soloway, W. Tjarks, B.A. Barnum, F.G. Rong, R.F. Barth, I.M. Codogni, J.G. Wilson, *Chemical Reviews* 98 (1998) 1515.
- [34] F. Teixidor, C. Vinas, A. Demonceau, R. Nunez, *Pure and Applied Chemistry* 75 (2003) 1305.
- [35] J. Rais, B. Grüner, in A.K.S. Y. Marcus (Editor), *Ion Exchange, Solvent extraction*, Marcel Dekker, New York, 2004, p. 243.
- [36] P. Cígler, M. Kožíšek, P. Řezáčová, J. Brynda, Z. Otwinowski, J. Pokorná, J. Plešek, B. Grüner, L. Dolečková-Marešová, M. Máša, Sedláček, J., J. Bodem, H.-G. Kräusslich, V. Král, J. Konvalinka, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102 (2005) 15394.
- [37] R. Bernard, D. Cornu, J. Scharff, R. Chiriac, P. Miele, P. Baldeck, J. Čáslavský, *Inorg. Chem.* 45 (2006) 8473.
- [38] B. Grüner, I. Císařová, J. Čáslavský, B. Bonnetot, D. Cornu, *Coll. Czech. Chem. Commun.* 67 (2002) 952.
- [39] L. Mikulášek, B. Grüner, C. Danila, V. Boehmer, J. Čáslavský, P. Selucký, *Chemical Communications* 2006 (2006) 4001.
- [40] K. Volná, M. Holčapek, L. Kolářová, K. Lemr, J. Čáslavský, P. Kačer, J. Poustka, M. Hubálek, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* (2007).
- [41] J. Pól, E. Varad'ová Ostrá, P. Karásek, M. Roth, K. Benešová, P. Kotlaříková, J. Čáslavský, *Anal. Bioanal. Chem.* 388 (2007) 1847.

ABSTRACT

This habilitation thesis is focused on the application of modern analytical approaches – passive sampling of persistent organic pollutants and application of mass spectrometry in environmental analysis.

Passive sampling becomes more and more important method in the environmental analysis of persistent organic pollutants. These methods are cheap, reliable and efficient, because they comprise *in-situ* isolation and preconcentration of target analytes. Semipermeable membrane devices (SPMDs) belong to frequently used passive samplers. These devices were originally designed as concentrators of lipophilic organic pollutants from water, which to certain extent mimic the uptake of these compounds by water biota. Their ability to effectively sequester organic pollutants from air was discovered soon and nowadays they are also used for the monitoring of atmosphere. In the research included in this thesis SPMDs were used as passive samplers for polycyclic aromatic hydrocarbons in waters and atmosphere of industrially polluted area. Sampling rates for 16 PAHs from the US EPA Priority Pollutants List in atmosphere, which were not available in the time of experimental realization of these studies, were evaluated using the comparison of active sampling results and amounts of PAHs sequestered by co-located SPMDs with varying exposition time. The kinetics of the PAHs uptake by SPMDs was also under focus and the explanation of the SPMDs ability to uptake PAHs present in atmosphere exclusively in the particulate phase was proposed.

Attention was also paid to high-molecular-mass polycyclic aromatic hydrocarbons with molecular mass exceeding 278 u (HMW-PAHs); some of these compounds (dibenzo-pyrenes) are contemporary recommended for monitoring in food (EU Recommendation 256/2005). These compounds were analyzed again in industrially contaminated area by two methods. Laser desorption/ionization / Time-of-Flight mass spectrometry was used for the quick evaluation of molecular mass distribution of HMW-PAHs. Presence of compounds with molecular mass up to 450 was proved. HPLC/MS using atmospheric pressure chemical ionization (APCI) was used for detailed separation and quantitation of individual compounds.

Mass spectrometry using spherical ion trap and electrospray ionization was also successfully applied for the confirmation of the structure of newly synthesized borane and carborane cluster compounds. These substances found their application as selective extraction agents for the isolation of highly radioactive nuclides from the waste from nuclear power plants, but also promising results in the field of HIV protease inhibition by carborane-type compounds was currently described.

The last part is oriented on the questions of basic research in mass spectrometry and on the applications of this technique in solving of practical problems. The main idea in this part is an attempt to find the conditions for building of mass spectral library using soft ionization technique. An algorithm for measuring of representative mass spectra was proposed and verified using seven various mass spectrometric instruments and more than 50 polysulphonated dyes.

Both passive sampling using SPMDs and some other types of passive sampling devices and mass spectrometry are applied by the author of this habilitation thesis in his pedagogical and research activities.