

**Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická**

**Extrakce významných metabolitů vznikajících biologickým rozkladem
oxyethylenovaných 4-nonylfenolů z vody magneticky modifikovanými
sorbenty**

Ing. Tomáš Hubka

**Disertační práce
2008**

**University of Pardubice
Faculty of chemical technology**

**Extraction of the important metabolites from biodegradation of
oxyethylated 4-nonylphenols from water by magnetically modified sorbents**

Ing. Tomáš Hubka

**Dissertation
2008**

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V České Skalici dne 21. 3. 2008

Ing. Tomáš Hubka

PODĚKOVÁNÍ:

Rád bych poděkoval Doc. Ing. Karlu Komárkovi, Csc. za cenné rady a připomínky během vypracování disertační práce.

Dále Ing. Haně Kujalové z VŠCHT Praha za odběr a poskytnutí vzorků z testování biologické rozložitelnosti.

Děkuji také svým rodičům za to, že mi umožnili vystudovat tuto vysokou školu a za jejich podporu při jejím vystudování.

Souhrn

V obecné části práce byl podán přehled jednak o vlastnostech a analýze oxyethylenovaných nonylfenolů a metabolitů vznikajících jejich rozkladem s důrazem na jejich izolaci ze vzorků vod a jednak také o extrakci magnetickou tuhou fází.

Ze širokého spektra námi navržených magneticky modifikovaných sorbentů byly vybrány pomocí modelových vodných směsí alkylfenolů, oxyethylenovaných nonylfenolů s nižším i vyšším počtem oxyethylenových jednotek v molekule a čistých 4-*n*-nonylphenolmono-, di- a trioxyethylátů a jim odpovídajících karboxylovým kyselin ty nejvhodnější. U nich pak byly optimalizovány jednotlivé fáze extrakce uvedených analytů z vodných vzorků. Optimalizována byla doba sorpce na přidávaný magneticky modifikovaný sorbent, doba statické eluce zachycených analytů ze sorbentu, množství elučního rozpouštědla a počet opakovaných elucí.

Nejvhodnější magneticky modifikované sorbenty byly za nalezených optimálních podmínek využity pro extrakci reziduí oxyethylenovaných nonylfenolů z vody a pro stanovení významných rezistentních metabolitů ve vodné fázi po testování biologické rozložitelnosti a dále i ve vzorcích povrchových vod.

Z výsledků studia biologické rozložitelnosti oxyethylenovaných 4-nonylfenolů a i z výsledků stanovení významných rezistentních metabolitů v povrchové vodě jasně vyplynulo, že je nejen nevhodné tyto látky používat v praxi, ale spíše jejich používání zcela zakázat.

Studie také poukázala na možnost využití laboratorně magneticky modifikovaných běžných sorbentů pro extrakci různých typů organických látek ze vzorků vod. Výhody tohoto způsobu extrakce jsou jeho jednoduchost, rychlost, malé množství rozpouštědel, malé množství odpadů a nízké náklady.

Summary

In the general part of my dissertation I wrote about summary of the properties and analysis of oxyethylenated nonylphenols and metabolites originated by their decomposition with targeting on its isolation from the water samples. I also wrote about the magnetic solid phase extraction.

From wide spectrum of the magnetically modified sorbents we chose the best of them by the aid of the model mixtures of alkylphenols, oxyethylenated nonylphenols with low and middle number of oxyethylated units and refined 4-n-nonylphenol mono-, di- and trioxyethylenates and its carboxylic acids. We optimised various parts of the extraction of analytes from the water samples with these sorbents. We optimised the time of sorption to the magnetically modified sorbent, the time of static elution of analytes from sorbent, the amount of elution solvent and the number of repeated elutions.

The most useful magnetically modified sorbents were under optimised conditions used for the extraction of residues of oxyethylenated nonylphenols from water and also for determination of the important resistant metabolites in the water phase after testing on biodegradability.

It has clearly emerged from the testing on biodegradation of oxyethylenated nonylphenols and from the results of determination of the important metabolites in the surface water that is wrong to use these substances in the standard practise and its using would be permitted.

This study shows the possibility of using magnetically modified sorbents for the extraction of different organic substances from the water samples. Advantages of this kind of extraction are its simplicity, rapidity, small amount of solvents, small amount of wastes and low costs.

Nonylphenols

Oxyethylenated nonylphenols

Water samples

Magnetic solid phase extraction

Gas chromatography

Obsah:

1. Obecná část	11
1.1 Tenzidy.....	11
1.2 Oxyethylenované nonylfenoly.....	12
1.2.1 Struktura a výroba.....	12
1.2.2 Použití tenzidů v praxi a výskyt v prostředí	15
1.2.3 Vlastnosti.....	17
1.2.3.1 Toxicita.....	17
1.2.3.2 Estrogenita	18
1.2.3.3 Rozpustnost a tvorba micel.....	20
1.2.3.4 Tvorba emulzí.....	21
1.2.4 Biologická rozložitelnost.....	22
1.2.4.1 Problematika biologické rozložitelnosti.....	22
1.2.4.2 Posuzování biologické rozložitelnosti.....	24
1.2.4.3 Vlivy ovlivňující biologickou rozložitelnost	27
1.3 Odběr vzorků.....	29
1.4 Extrakce oxyethylenovaných nonylfenolů a jejich rozkladných produktů z vodných vzorků.....	30
1.4.1 Kapalinová extrakce.....	30
1.4.2 Extrakce tuhou fází.....	31
1.5 Metody pro stanovení oxyethylenovaných nonylfenolů.....	33
1.5.1 Spektrofotometrické stanovení.....	33
1.5.1.1 Trijodidové metody.....	34
1.5.1.2 Metody s tetrathiokyanátokobaltnatanem amonným.....	36
1.5.1.3 Metody s tetrajodobismutitanem draselným.....	37
1.5.2 Chromatografické stanovení.....	38
1.5.2.1 Stanovení plynovou chromatografií.....	38
1.5.2.2 Stanovení kapalinovou chromatografií.....	43
1.6 Extrakce magnetickou tuhou fází.....	49
1.6.1 Princip MSPE.....	49
1.6.2 Magnetické sorbenty.....	51
1.6.3 Magnetické separátory.....	57

1.6.4 Hlavní využití MSPE v poslední době	59
1.7 Shrnutí obecné části.....	68
1.8 Záměr práce.....	69
2. Experimentální část	70
2.1 Použité chemikálie.....	70
2.2 Použité přístroje a zařízení.....	72
2.3 Pracovní podmínky.....	72
2.4 Pracovní postup.....	73
2.4.1 Příprava modelových roztoků alkylfenolů	73
2.4.2 Zpracování vzorků po testech biologické rozložitelnosti.....	73
2.4.3 Zpracování vzorků vody z řeky Labe a přehradní nádrže Rozkoš.....	74
2.4.4 Postup při extrakci magneticky modifikovaným sorbentem.....	74
2.4.4.1 Optimalizace extrakce magneticky modifikovanými sorbenty.....	75
3. Výsledky a diskuze.....	76
3.1 Extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty.....	76
3.1.1 Optimalizace podmínek extrakce s vybranými magneticky modifikovanými sorbenty.....	76
3.1.2 Přehled výsledků z optimalizace extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody dalšími magneticky modifikovanými sorbenty.....	84
3.1.3 Přehled výtěžností extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty za nalezených optimálních podmínek.....	85
3.2 Porovnání výsledků kapalinové extrakce s extrakcí magneticky modifikovanými sorbenty.....	87
3.3 Biologická rozložitelnost oxyethylenovaných 4-nonylfenolů.....	88
3.4 Stanovení studovaných metabolitů v povrchových vodách.....	90
4. Závěr.....	91
5. Seznam použité literatury	94
6. Přehled publikační činnosti.....	101
6.1 Publikace a sdělení v časopisech.....	101
6.2 Příspěvky ve sbornících.....	102
6.3 Přednášky na konferencích.....	102
6.4 Postery na konferencích.....	103
7. Přílohy.....	105

7.1 Seznam příloh.....	105
7.2 Tabulky.....	107
7.3 Grafy.....	120
7.4 Chromatogramy.....	139

Seznam použitých zkratk

NPnEO – oxyethylenovaný nonylfenol s n oxyethylenovými jednotkami

NP – nonylfenol

AP – alkylfenol

APnEO - oxyethylenovaný alkylfenol s n oxyethylenovými jednotkami

CMC - kritická micelární koncentrace

OP – oktylfenol

NPnEC – nonylfenoxyethoxyoctová kyselina s n oxyethylenovými jednotkami

DOC – rozpuštěný organický uhlík

BSK – biochemická spotřeba kyslíku

HPLC – vysokotlaká kapalinová chromatografie

GC – plynová chromatografie

SPE – extrakce tuhou fází

CTAS – látky aktivní s thiokyanátem kobaltnatým

BiAS – látky aktivní s bismutem

TMCS – trimethylchlorsilan

HMDS - hexamethyldisilazan

TBF – tribromfenol

FID – plamenový ionizační detektor

MS – hmotnostní spektrometr

SPME – mikroextrakce tuhou fází

LLE – extrakce kapalina - kapalina

PFO – poly(oxy-2,6-dimethyl-1,4-fenylen)

1. Obecná část

1.1 Tenzidy

Oxyethylenované nonylfenoly, které byly z hlediska analytického předmětem našeho výzkumu, patří do skupiny látek nazývaných tenzidy. Tenzidy¹ je skupinové označení pro látky jejichž společnou vlastností je, že jsou povrchově aktivní. V důsledku této specifické interakce s molekulami disperzního prostředí výrazně ovlivňují energetické poměry na rozhraní, což se projevuje snížením povrchového napětí. Z této základní, společné a charakteristické vlastnosti této skupiny látek vyplývá i jejich název, který r. 1960 navrhl Götter².

Molekuly, které se nacházejí v povrchových vrstvách kapaliny jsou v jiném energetickém stavu než vnitřní molekuly. Ze strany kapaliny působí větší mezimolekulové síly než ze strany plynné fáze. Projevem asymetrie sil působících na povrchové molekuly je jejich vtahování do kapalné fáze. Kapaliny se v důsledku silných přitažlivých (adhesních, kohesních) sil mezi blízkými částicemi, snaží zaujmout co možná nejmenší povrch. Vlastnost povrchu, která takto působí, se nazývá povrchové napětí γ .

Povrchové napětí kapaliny γ působí v rovině povrchu a má rozměr síla.délka⁻¹, je tedy vektor. Veličinu γ lze též chápat jako (mezi)povrchovou energii, tj. energii skrývající se v jednotce mezifázové plochy s rozměrem energie.plocha⁻¹. Základní vztah mezi γ a termodynamickými veličinami lze odvodit ze spojení první a druhé věty termodynamické s objemovou prací, spojenou se změnou plochy (mezi)povrchu kapaliny:

$$dU = T.dS - p.dV + \gamma.dA \quad (1)$$

kde je: A = povrchová plocha, U = vnitřní energie, T = teplota soustavy, p = tlak v soustavě, V = objem soustavy, S = entropie soustavy

Povrchovou aktivitu ovlivňuje chemická struktura tenzidů. Tenzidy obsahují hydrofóbní skupinu jako nepolární část a hydrofilní skupinu, která ovlivňuje polaritu molekuly, a tím povrchové jevy na fázovém rozhraní.

Hydrofóbní složku tenzidů vytvářejí zpravidla uhlovodíkové zbytky, a to alifatické řetězce alkanů, alkenů nebo zbytky aromatických sloučenin (benzenu, fenolu, naftalenu), přednostně ve formě alkylovaných aromatických sloučenin (alkylfenolů, alkylbenzenů a alkylnaftalenů).

Hydrofilní skupina, kterou prezentuje polární část molekuly, má k vodě velkou afinitu a ve vodném prostředí je velmi hydratovatelná. Silně ovlivňuje celkovou polaritu, rozdělení elektrického náboje a celkového iontového charakteru. Hydrofilní složka tenzidů je polární

skupina schopná disociace (-COOH, -SO₃H) nebo polární nedisociovaná skupina (-O-, -OH, -COO-, -SO₂NH-).

Nejběžnějším kritériem systematického rozdělení tenzidů je jejich iontový charakter, podle kterého je možno je rozdělit na čtyři skupiny: anionické, kationické, amfolytické a neionické.

Anionické tenzidy disociují ve vodném prostředí na záporně nabitý organický ion a kationtovou část, kterou je většinou sodíkový iont. Hlavními funkčními skupinami jsou tedy -COOH, -SO₃⁻ a -PO₃⁻. Nejběžnější jsou alkybenzen sulfonáty (LAS) a mastné kyseliny. Anionické tenzidy jsou dobrými rozpouštědly. Používají se např. při zpracování ropy.

Kationické tenzidy jsou schopné tvořit ve vodném prostředí kladně nabitě organické ionty. Tyto sloučeniny obsahují jednu nebo více funkčních skupin. Anion je většinou anorganický (halogen). Nejběžnější jsou polyaminy a jejich soli nebo kvarterní ammoniové soli. Kationické tenzidy jsou většinou toxické, a proto se příliš nepoužívají. Také se sorbují na anionické povrchy a mohou se tedy usazovat.

Amfolytické tenzidy jsou sloučeniny se dvěma či více zásaditými a kyselými skupinami, které jsou v závislosti na podmínkách prostředí (pH) schopné disociovat ve vodném roztoku a poskytovat tak povrchově aktivní látky s aniontovým nebo kationtovým charakterem. Amfolytické tenzidy se uplatňují jen v malé míře.

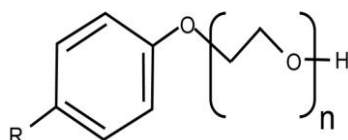
Neionické tenzidy ve vodném roztoku nedisociují. Rozpustnost ve vodě takových sloučenin umožňuje přítomnost takových seskupení funkčních skupin v molekule, které mají silnou afinitu k vodě. Může to být např. polyethylenglykolový řetězec, polyhydroxysloučeniny, cukry apod. Neionické tenzidy jsou dobrými rozpouštědly, ale problémem jsou estrogení vlastnosti metabolitů a horší biologická rozložitelnost u oxyethylenovaných alkylfenolů. Nejběžnější jsou oxyethylenované alkoholy a oxyethylenované alkylfenoly.

1.2 Oxyethylenované nonylfenoly (NPnEO)

1.2.1 Struktura a výroba

Oxyethylenované alkylfenoly se skládají z hydrofobní a z hydrofilní části tvořené oxyethylenovým řetězcem, který zajišťuje rozpustnost ve vodě, protože k ní má velkou afinitu. Tato část je polární a ovlivňuje rozdělení elektrického náboje v molekule.

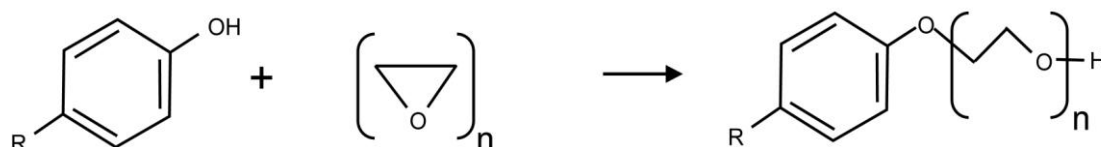
Alkylový řetězec může být rozvětvený i nerozvětvený. Hydrofobní část molekuly je většinou tvořena 4-nonylfenolem. Oxyethylenový řetězec může také obsahovat různý počet oxyethylenových jednotek, od 1 až do 50. Molekulová hmotnost se pohybuje přibližně od 250 g.mol⁻¹ do 2000 g.mol⁻¹. Obecný strukturální vzorec je uveden na obrázku č. 1:



Obr.1: Obecný vzorec oxyethylenovaného 4-alkylfenolu, kde R = alkyl a n = počet oxyethylenových skupin

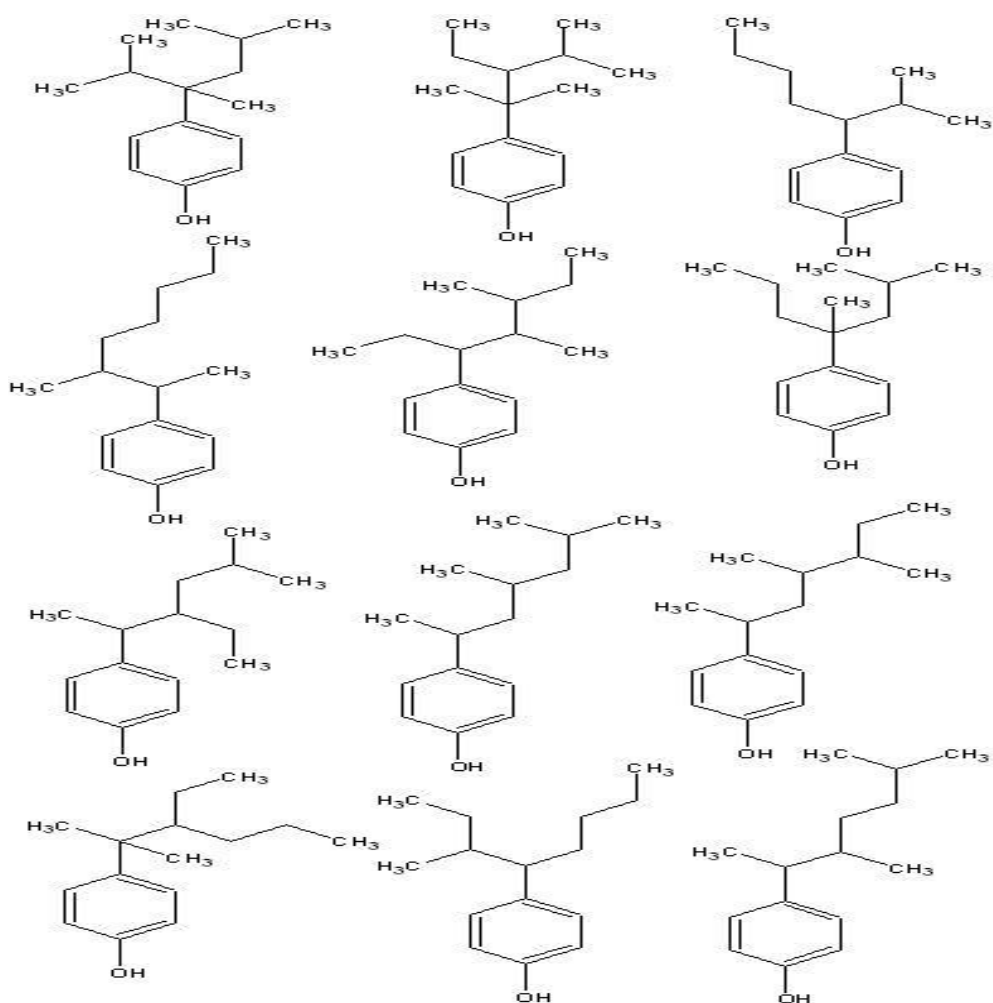
Pro výrobu oxyethylenovaných 4-nonylfenolů se používají jako výchozí surovina 4-nonylfenol (NP). Ty se vyrábí alkyací fenolů nonenem za přítomnosti katalyzátorů jako jsou AlCl_3 , ZnCl_2 nebo BF_3 . Výsledkem je technická směs izomerů nonylfenolu o různé délce, poloze a rozvětvenosti alkylového řetězce. Převažují p-nonyl- izomery, dále jsou v malé míře zastoupeny i oktyl- a decyl- izomery. Všechny izomery je přibližně 22. O jejich identifikaci se pokusili např. Wheeler a kol.³ nebo Gundersen⁴. Kim a kol.⁵ identifikovali osm izomerů nonylfenolu a jeden decylfenol. Ruß a kol.⁶ připravili šest izomerů nonylfenolu a potvrdili jejich přítomnost ve dvou komerčně dostupných směsích. Některé izomery 4-nonylfenolu přítomné v technické směsi jsou znázorněny na obrázku č. 3.

Při výrobě oxyethylenovaných 4-nonylfenolů se tedy používá technická směs a proto může vzniknout celá řada produktů. A jelikož proces výroby je založen na vícenásobné adici ethylenoxidu na alkylfenoly (AP), tak vznikají navíc další produkty jako např. polyethylenglykol.

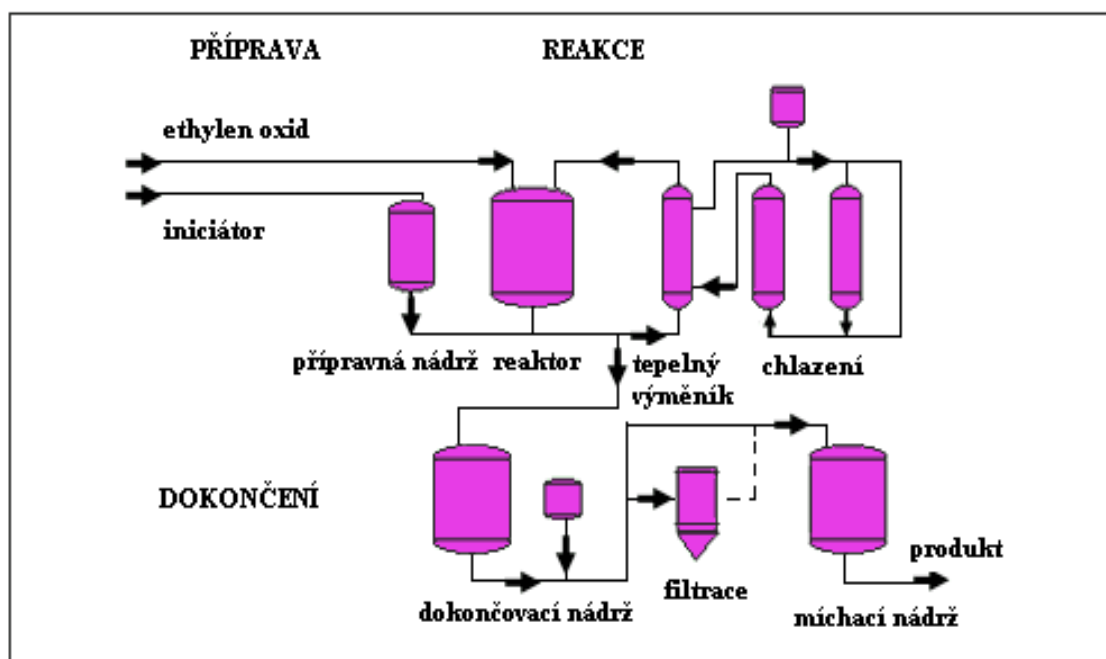


Obr.2: Obecné reakční schéma vzniku oxyethylenovaného 4-alkylfenolu, kde R = nonyl a n = počet oxyethylenových skupin

Celý výrobní proces se skládá ze tří částí (také výrobní jednotka má tři samostatné plně automatické části): příprava, reakce a zakončení. Schéma výrobního procesu lze nalézt na internetu a je zobrazeno na Obr.4.



Obr.3: Různé izomery zastoupené v technické směsi p-nonylfenolů



Obr.4: Schéma průmyslového zařízení pro výrobu NPnEO

V přípravném kroku se do nádrže předloží potřebné množství 4-nonylfenolu, přidá se katalyzátor a zahřívá se na reakční teplotu. Směs proudí do reaktoru.

V reakčním kroku se postupně přidává do reaktoru ethylenoxid (oxiran) v přesných časových intervalech. Směs proudí z reaktoru do tepelného výměníku kvůli ochlazení.

Po adici ethylenoxidu se produkt vede do části, kde podle potřeby proběhne neutralizace a filtrace.

1.2.2 Použití tenzidů v praxi a výskyt v prostředí

Použití tenzidů obecně je velice rozsáhlé a zasahuje do různých průmyslových odvětví, kdy prakticky všechna průmyslová odvětví mají bezprostřední vztah k problematice tenzidů z hlediska aplikace v technologických procesech, kde se uplatňují jako dispergátory, emulgátory, detergenty, stabilizátory, smáčedla, solubilizátory, aditiva atd. V současnosti se využívají v širokém rozsahu v osobní hygieně, při přípravě kosmetických a farmaceutických přípravků, při praní a čištění šatstva, při údržbě a čištění bytových textilií a doplňků. Nejčastější použití je však v textilním průmyslu, kdy slouží jako smáčedla textilních vláken, při barvení a úpravě textilních materiálů. Při výrobě a zpracování plastických hmot se využívají jako emulgátory polymerace, změkčovací a antistatické prostředky, při zpracování ropy jako deemulgátory ropných emulzí. Při zpracování kůže a kožešin se aplikují jako smáčedla, prací a emulgační přípravky. V průmyslu papíru se využívají již ve fázi přípravy papíru, kdy přídatek tenzidu podporuje retenci a ovlivňuje viskozitu systému. V zemědělství se využívají jako emulgátory a dispergátory pesticidů a hnojiv. V kovozpracujícím průmyslu působí jako čistící a odmašťovací prostředky, mazací prostředky, chladicí a mazací kapaliny při obrábění kovů a jako antikorozivní přísady atd. V uhelném průmyslu a v průmyslu neželezných kovů se uplatňují jako flotační přísady. Další oblastí použití tenzidů je potravinářský průmysl, kde se využívají jako emulgátory tuků, přísady do pekařských a mražených výrobků.

NP je zdaleka komerčně nejdůležitějším alkylfenolem v Evropě, s každoroční produkcí kolem 75 000 tun, z nichž je 60 % použito na výrobu oxyethylovaného nonylfenolu.

V roce 1998 byla spotřeba NPnEO v Evropě 20 tisíc tun⁷. Pro představu spotřeby v jednotlivých odvětvích průmyslu a v různých letech a zemích jsou uvedeny následující tabulky.

Tab.I: Využití všech typů tenzidů v roce 1996 v Německu

	7500 - 8500
barviva	2000 - 3000
	2000
	1500
	1000
	1000

Tab.II: Spotřeba APnEO v tunách mezi roky 1990 až 1998 v Norsku a Dánsku.

Year	Norway	Denmark
1990	500	1100
1991	600	1300
1992	1350	865
1993	966	548
1994	1044	511
1995	970	420
1996	774	375
1997	595	407
1998	150	340

Vzhledem k velkému rozsahu použití a horší biologické rozložitelnosti se NPnEO a produkty jejich biodegradace vyskytují i v přírodě. Dostávají se tam hlavně z textilního průmyslu, průmyslu barviv, průmyslu papíru a.j.⁸. Jejich akumulace je hlavně ve vodním prostředí, ale i v živočiších. Obsah akumulovaných NPnEO a jejich metabolitů se pohybuje od nanogramů až po miligramy na litr.

Bester a kol.⁹ zjišťovali přítomnost NP a NPnEO v Německém zálivu Severního moře. Nalezené koncentrace se pohybovaly od 10 do 150 ng.g⁻¹ sedimentu a od 0,7 do 4,4 ng.l⁻¹ mořské vody. Také analyzovali vodu z Labe, kde koncentrace NPnEO byla až 10 krát větší než v mořské vodě.

Blackburn a Waldoock¹⁰ stanovovali obsah AP v anglických řekách. V šesti různých řekách stanovili koncentrace NP od 0,5 až do 180 µg.l⁻¹. Také zjistili, že největší obsahy NP jsou v řece Aire, do které ústí nejvíce odpadních vod.

Azevedoa a kol.¹¹ stanovovali obsah NP v povrchových vodách Portugalska. Koncentrace NP se pohybovaly mezi 0,03 až 30 µg.l⁻¹.

Tsuda a kol.¹² stanovovali obsah NP a NPnEO v řekách ústících do jezera Biwa v Japonsku. Výsledné koncentrace byly od 0,1 až 3 µg.l⁻¹.

Shao a kol.¹³ také stanovovali obsah NP a NPnEO v řekách v Číně. Nalezené koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 0,2 do 100 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Nízké koncentrace byly dokonce stanoveny v tamní pitné vodě.

Sabik a kol.¹⁴ se pro změnu zaměřili na řeku Sv. Vavřince v Kanadě. Nalezené koncentrace NP a NPnEO byly od 0,01 do 10 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

I v USA byl sledován výskyt NP a NPnEO. Kannan a kol.¹⁵ je stanovovali v Michiganu a Pryor a kol.¹⁶ v New Yorku. V michiganské řece byly nalezeny koncentrace od 2 do 20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ a v New Yorku až 2 mg na 1 kg kalu.

Z uvedených údajů je patrné, že použití NPnEO je opravdu celosvětové, ale také, že dochází k akumulaci původních NPnEO i jejich rozkladných produktů, proto je ve větší či menší míře nacházíme v různých druzích vod, jako jsou vody povrchové, odpadní nebo dokonce i v pitné vodě.

1.2.3 Vlastnosti

1.2.3.1 Toxicita

Toxicita tenzidů vůči lidem, mikroorganismům a různým formám vodního života je různá, např. kationické tenzidy jsou více toxické než anionické nebo neionické, obecně je však toxicita tenzidů poměrně malá, takže předpisy upravující jejich maximální koncentrace ve vodách vycházejí spíše z hlediska estetického, kterým je pění vody. Tenzidy fungují jako dispergátory nežádoucích organických sloučenin ve vodě, zvyšují hydrataci aktivovaného kalu a jejich pění zabraňuje účinnému provzdušňování vody, což v souhrnu snižuje účinnost biologického čištění. Naše normy připouštějí 0,2 mg.l^{-1} anionických tenzidů v pitné vodě. Ve vodárenských tocích jsou nejvyšší přípustné hodnoty 0,1 mg anionických a 0,5 mg neionických tenzidů na 1 litr vody¹⁷.

Toxicita se může posuzovat např. podle těchto kritérií:

1) efektivní koncentrace EC_{50}

2) střední letální koncentrace LC_{50}

Letální koncentrace vyjadřuje koncentraci, při které 50 % organismů uhynie po krátkém vystavení účinkům látky, většinou 48 nebo 96 hodinovému a efektivní koncentrace vyjadřuje koncentraci, při které se u přeživších organismů objeví jiné efekty.

Další rozdělení může být podle míry toxicity:

a) vysoce toxické tenzidy:

- patří sem všechny kationické tenzidy na bázi alkylnpyridinových a alkylntrimetylamoniových sloučenin. Z neionických přípravků to jsou oxyethylované mastné aminy a adukty

ethylenoxidu s alkoholy. Z anionických tenzidů to jsou alkylbenzensulfonany a alkylsulfonany s alifatickým řetězcem.

b) velmi toxické tenzidy:

- sem patří většina sledovaných tenzidů. Z neionických tenzidů jsou to adukty ethylenoxidu s alkylfenoly nebo oxyethylenované mastné alkoholy. Z anionických přípravků je to laurylsíran sodný, acetylsíran sodný, reakční produkty sulfátových mastných alkoholů s pyridinovými bázemi a reakční produkty alkylbenzensulfonánů s alkylsíranými.

c) toxické tenzidy:

- z neionických přípravků sem patří kondenzáty stearové a olejové kyseliny s ethylenoxidem, kondenzáty ricinového oleje s ethylenoxidem.

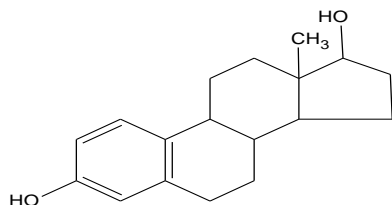
d) tenzidy mírně toxické:

- do této skupiny patří některé přípravky na bázi polyethylenoxidu

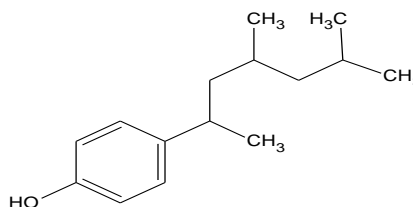
Toxicita APnEO se obvykle zvyšuje s klesající délkou oxyethylenového řetězce, proto jsou rozkladné produkty více toxické než původní látky. AP jsou několikrát více toxické než APnEO. Např. pro lososa mají APnEO LC_{50} okolo $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$, kdežto AP mají LC_{50} okolo $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$. Pro mořského garnáta je tato hodnota dokonce $43 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ ¹⁸.

1.2.3.2 Estrogenita

Velice problematickou vlastností NP a NPnEO s nízkým počtem EO skupin je jejich estrogenita. Estrogenitou se myslí napodobování funkcí estrogenu. Estrogen je hormon, který ovlivňuje vývoj ženských pohlavních znaků a funkce pohlavních orgánů¹⁹. Tyto účinky byly u NP a APnEO zjištěny již v roce 1938 Doddsem a Lawsonem²⁰. Napodobování funkcí estrogenu je zapříčiněno strukturální podobností mezi izomery 4-nonylfenolu a estradiolem, jakožto hlavní složkou estrogenu (viz Schéma.3).



17β-estradiol



2,4,6-trimethylhexyl-4-fenol

Obr.5. Porovnání vzorce 17β-estradiolu a rozvětveného 4-nonylfenolu

Další důkazy estrogenních efektů byly publikovány v roce 1978 Muellerem a Kimem²¹. Dokázali, že alkylfenoly mohou odtrhnout estrogen z jeho receptoru a také zabránit jeho

opětovnému zachycení.

Účinek na lidský organismus se zkoumal až v roce 1991²², kdy bylo zjištěno, že 4-nonylfenol, ovlivňuje růst buněk u rakovinových nádorů prsu.

Mnoho studií se zabývá efekty u pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss*. Jobling a Sumpter²³ se zabývali ovlivněním tvorby proteinu vaječného žloutku - vitellogeninu a účinkem na hepatocyty. Jejich výsledky znázorňuje tabulka III:

Tab. III. Vliv 4-nonylfenolu na vliv tvorby vitellogeninu

Sloučenina	ED ₅₀ (effective dose)	relativní účinek
17β-estradiol	1,81 nM	1
4-nonylfenol	16,15 μM	9*10 ⁻⁶
4- <i>terc</i> -butylfenol	2,06 μM	160*10 ⁻⁶
4- <i>terc</i> -oktylfenol	2,11 μM	37*10 ⁻⁶
NP2EO	17,27 μM	6*10 ⁻⁶
NP9EO	82,31 μM	0,2*10 ⁻⁶

Nejdetaillnější studie byla vypracována v roce 1994 Whitem a kol.²⁴ Studie obsahovala důkazy o stimulaci genových projevů vitellogeninu u pstruha duhového, genovém přepisu v buňkách a růstu rakovinových buněk. Vše bylo způsobeno kvůli vázání látek jako APnEO a jejich metabolitů na receptory a tím zabránění navázání estrogenu. Největší odezva byla zjištěna u 4-*terc*-oktylfenolu a to až 1000 krát větší než by byla u estradiolu. Již 20 μg.l⁻¹ 4-*terc*-oktylfenolu způsobovalo růst rakovinových buněk.

Estrogenní účinky byly také pozorovány u kuřecích embrií nebo u krys, u nichž rapidně snižovaly počet spermií, což bylo zjištěno i u lidí.

Estrogenní látky se mohou do lidského těla dostat mnoha různými cestami a to také do různých částí těla. Uvolnění APnEO a jejich metabolitů bylo zkoumáno např. z PVC potrubí v továrnách na mléko, PVC krabic na jídlo nebo z přípravků jako šampony, deodoranty atd.

Na stanovení rizika pro zvířata i lidi se používají dva testy: *in vivo* a *in vitro*.

Mezi *in vivo* testy patří uterotopický rozbor, který je nejrozšířenější pro detekci estrogenních látek a byl vypracován Dorfmanem A. a Dorfmanem R.²⁵ Jeho principem je měření váhových změn dělohy u nedospělých hlodavců.

Dalším *in vivo* testem je Hershbergerův rozbor²⁶, který zkoumá schopnost estrogenních látek vyvolat jisté účinky u receptorů. Rozbor se provádí u kastrováných krys a měří se hmotnost prostaty.

Van den Belt a kol.²⁷ se zabývali *in vivo* i *in vitro* testováním u ryb *Brachydanio rerio* a při obou testech zjistili přítomnost a estrogenní aktivitu NP.

In vitro testy byly vyvinuty pro rychlé a citlivé zjišťování velkého množství látek. Hlavní testy jsou uvedeny v tabulce IV:

Tab. IV. Hlavní *in vitro* testy

Typ rozboru	Princip
Rozbor vázání receptorů	vázací afinita látky vůči receptoru
Rozbor rozšiřování buněk	schopnost látky stimulovat růst buněk
Rozbor označování genů	schopnost látky aktivovat přepis genu
Analýza přenosu hormonálně citlivých genů	schopnost látky vyvolat projev hormonálně citlivého genu

Rozbor vázání receptorů: estradiol se na cílové buňky váže přes specifické receptory, na ně se však také mohou vázat estrogenní látky. Této schopnosti se využívá a měří se vázací afinita. Tento test se velmi používá, protože je lehce proveditelný, rychlý a relativně levný.

Rozbor rozšiřování buněk: Také velice rozšířený test, který využívá měření rozšiřování linií u estrogenních buněk. Hlavně u buněk rakovinového nádoru. Nevýhodou tohoto testu je nutnost udržování přesně daných podmínek.

Rozbor označování genů: Využívá schopnost látek aktivovat přepis genu v eukariotických buňkách. Tento test se také používá u steroidních hormonů, má však také svá omezení.

Zajímavou analýzu provedli Shioji a kol.²⁸, a to závislost estrogenních účinků na délce a rozvětvenosti alkylového řetězce u izomerů NP. Zjistili, že větší rozvětvení na alfa uhlíku nemá vliv na estrogenitu, kdežto na beta uhlíku ano. Větší rozvětvení na beta uhlíku způsobuje větší estrogenní účinky. A také, že oktylfenol má větší estrogenní účinky než nonylfenol, ale i heptylfenol.

1.2.3.3 Rozpustnost a tvorba micel

Pokud jsou tenzidy přidány k vodnému roztoku mají tendenci se kumulovat na rozhraní kapalina – kapalina nebo kapalina – tuhý povrch. Až dojde k přidání určitého množství množství tenzidu k vodnému roztoku, začnou se tvořit micely. Micely obsahují stovky monomerů tenzidů. Hodnota množství, po kterém se začnou tvořit micely se nazývá kritická micelární koncentrace (CMC). Nad tuto hodnotu již přidávané tenzidy nezvyšují počet monomerů v roztoku, ale tvoří další micely.

Koncentrace tenzidů potřebná k zformování micel je obvykle malá a je závislá na druhu tenzidu, teplotě, tvrdosti vody atd. Obecně platí, že zvýšení molekulové hmotnosti nepolární části tenzidu, snížení rozvětvení hydrofobního řetězce a snížení počtu hydrofilních hlavních skupin zvýší rozpustnost. Jak se zvyšuje hydrofobicita, tak CMC ve vodném roztoku klesá.

CMC je obvykle mezi 10 mg.l⁻¹ až 2000 mg.l⁻¹.

Chování tenzidů ve vodě je závislé na teplotě. Teplota, při které dosahují tenzidy ve vodném roztoku CMC je závislá na Krafftově bodu. Pod Krafftovým bodem se nebudou tvořit micely.

Touto problematikou se zabývali např. Brix a kol.²⁹. Zkoumali rozpustnost NP a NPnEO a roli micel. Zjistili, že rozpustnost NP ve vodě je 4,9 mg.l⁻¹ a že NPnEO s vysokým počtem EO skupin netvoří micely a jsou velice dobře rozpustné. Také zjistili, že hodnota CMC je hlavně ovlivněna hydrofobními částmi molekuly.

1.2.3.4 Tvorba emulzí

Makroemulze je nežádoucí disperze dvou nemísitelných kapalin. Pokud je jedna kapalina dispergována v druhé, tak malé kapičky poskytují velké množství mezifázového povrchu a proto je v systému mnoho volné mezifázové energie. U čistých kapalin se kapičky rychle sloučí a mezifázové rozhraní se minimalizuje. Přítomnost tenzidu snižuje rychlost slučování kapiček a tím zvýší stabilitu emulzí.

Makroemulze jsou nežádoucí, protože snižují propustnost přes póry. Emulze se dělí podle toho, která kapalina je dispergovanou fází: „olej ve vodě“ nebo „voda v oleji“. Nedispergovaná fáze se nazývá spojitou. Emulze „olej ve vodě“ mohou být zředěny vodou a pokud je zředění dostatečné, tak emulze může invertovat a dispergovaná fáze se stane spojitou.

Při tvorbě emulzí hraje roli hlavně teplota a chemická struktura tenzidu, takže povaha emulze se může měnit se změnou chemického stavu systému.

Ve většině případů tvoří roztoky tenzidů emulze typu „voda v oleji“. Tyto emulze jsou vysoce viskózní a relativně nehybné.

Tvorbou emulzí a dělením AP a APnEO mezi organickou a vodnou fází se zabývali Ahel a Giger³⁰. Zkoumali konkrétně rozdělovací koeficienty 4-n-oktylfenolu (OP), NP a NPnEO s nižším počtem EO skupin u systémů n-oktanol/voda a n-hexan/voda. Jimi získané hodnoty rozdělovacích koeficientů pro oba systémy obsahuje následující tabulka.

Tab.V.: Rozdělovací koeficienty AP a APnEO mezi vodu a organická rozpouštědla

sloučenina	log K _{ow}	log K _{hw}
NP	4,48	3,7
NP1EO	4,17	3,4
NP2EO	4,21	3,3
NP3EO	4,2	xxx
OP	4,12	3

K_{ow} = rozdělovací koeficient systému n-oktanol - voda

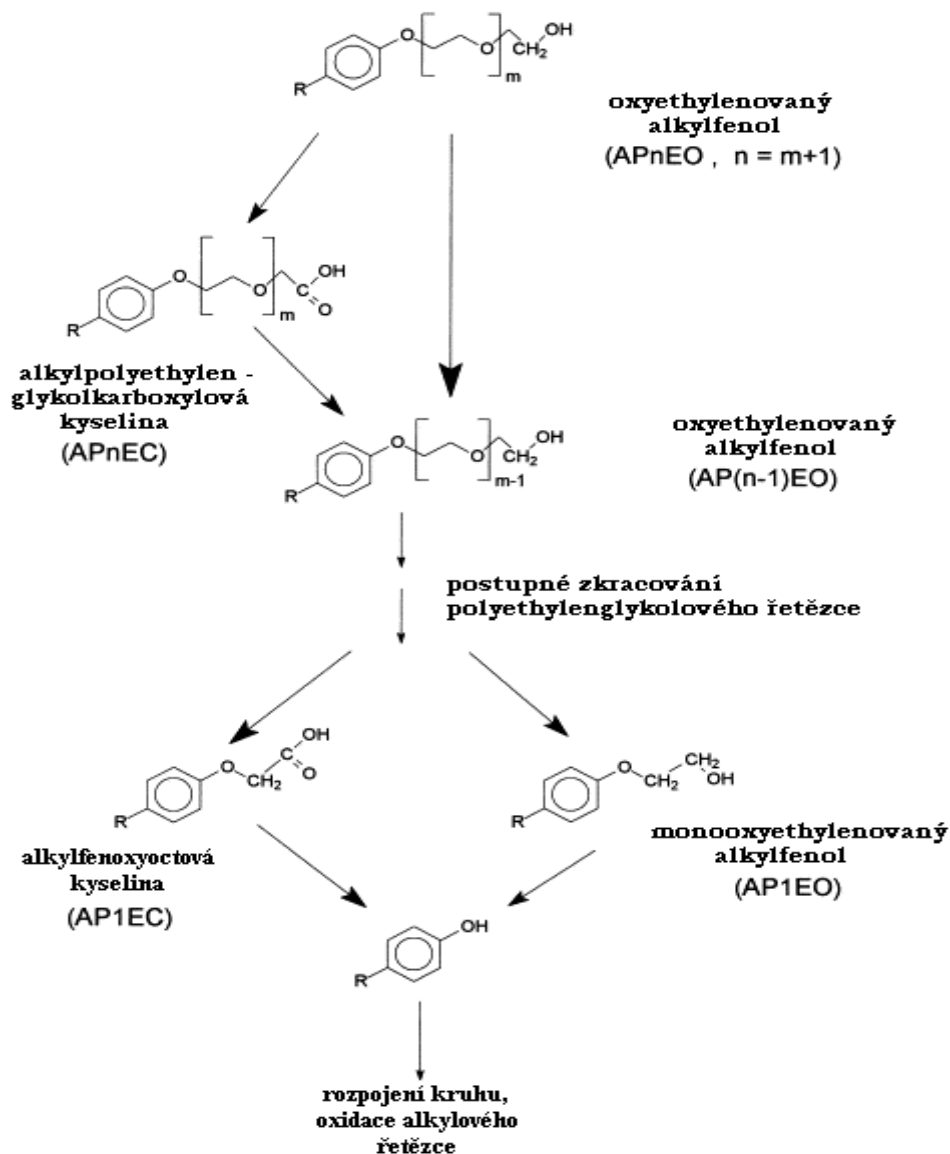
K_{hw} = rozdělovací koeficient systému n-hexan – voda

1.2.4 Biologická rozložitelnost

1.2.4.1 Problematika biologické rozložitelnosti

Biologická rozložitelnost je způsobená mikroorganismy, převážně bakteriemi. Biodegradace NPnEO probíhá v naprosté většině případů neúplně a vede k rezistentním lipofilním metabolitům, které jsou z hlediska bioakumulace, toxicity pro vodní organismy, rušivých účinků na endokrinní systém živočichů a biologické stability problematictější než výchozí sloučeniny. Prostřednictvím odtoků z ČOV se látky nonylfenolového typu dostávají do povrchových vod a dále pronikají do půdy, podzemních vod i potravních řetězců.

Biodegradace NPnEO probíhá přes několik mezistupňů, viz Obr. 6. V ideálním případě dokonalým rozkladem vznikne oxid uhličitý a voda.

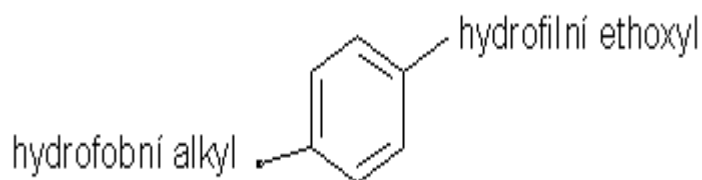


Obr.6. Schéma znázorňující rozpad molekuly APnEO při biologickém odbourávání

Metabolické přeměny NPnEO jsou velmi složité a vznikají při nich následující významné produkty lipofilního charakteru: NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC (nonylfenoxyoctová kyselina), NP2EC (nonylfenoxyethoxyoctová kyselina)³¹. V literatuře³² je navíc uveden volný polyethylenglykol a v práci³³ jsou zmíněny polyethylenglykol(di)karboxylové kyseliny. Hlavní biotransformační produkty (tj. NP, NP1EO, NP2EO, NP1EC, NP2EC) vykazují slabou až střední toxicitu vůči vodním organismům³¹, mají prokazatelné negativní účinky na endokrinní systém ryb, ptáků i savců³⁴ (v případě ryb již od koncentrace $10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)³⁵ a jsou vysoce rezistentní vůči dalšímu rozkladu³¹. Dochází ke značné bioakumulaci těchto látek ve tkáních nebo pletivech vodních organismů³⁴, zvláště v makrofytních řasách, kde bioakumulační faktor dosahuje hodnot až 10^4 ³⁶. V důsledku své hydrofobicity má NP, NP1EO a NP2EO tendenci adsorbovat se na částice říčních sedimentů a kalů³⁵. V sedimentech může být koncentrace NP až $5000\times$ vyšší než ve vodné fázi³⁷. Za aerobních podmínek v řekách dochází k pomalé biotransformaci NP1EO a NP2EO na NP1EC a NP2EC, event. i k fotodegradaci NP³⁷, avšak NP1EC a NP2EC jsou již biologicky velmi stabilní a navíc snadno pronikají do zvodnělé vrstvy půdy³⁴.

Sloučeniny alkylnonylfenolpolyoxyethylenového typu mají nezpochybnitelný ekotoxikologický dopad na životní prostředí. Je obecně známo, že se jedná o nebezpečné chemikálie. Přesto se každým dnem do povrchových vod chrlí obrovská množství nedostatečně vyčištěných odpadních vod, obsahujících metabolity NPnEO ještě toxicitější a biologicky rezistentnější, než byly původní sloučeniny. Pro ilustraci: například do švýcarské řeky Glatt denně vstupuje převážně prostřednictvím odtoků z ČOV celkem 35 kg sloučenin nonylfenolového typu³⁷.

Rozklad má tedy dva hlavní mechanismy: rozbití vazby mezi hydrofobní a hydrofilní částí a oxidaci.

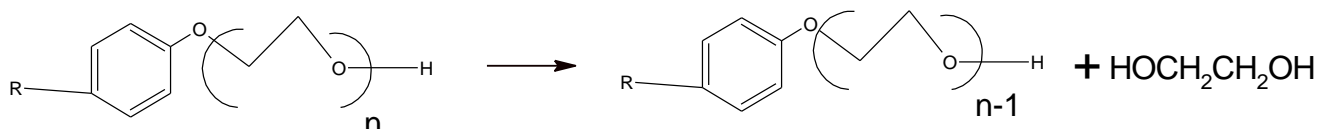


Obr. 7. Schématické znázornění chemických částí APnEO

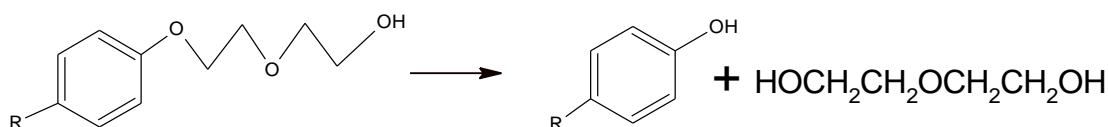
Na základě těchto mechanismů dochází ke třem způsobům degradace molekuly APnEO:

1. zkracování polyethylenglykolového řetězce
2. roztržení etherové vazby a poté oxidace α -uhlíku
3. oxidace poslední methylové skupiny lineárního alkylového řetězce s následnou rychlou degradací vzniklého alkoholu

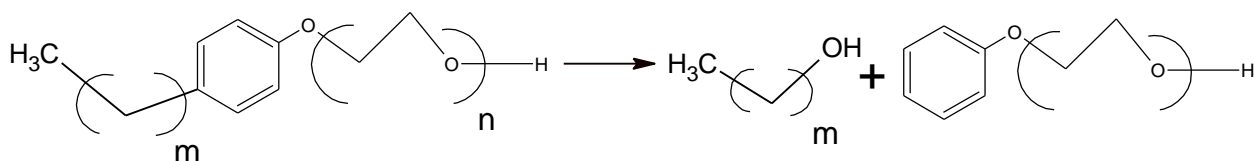
1)



2)



3)



1.2.4.2 Posuzování biologické rozložitelnosti

Posuzování biologické rozložitelnosti povrchově aktivních látek (tenzidů) probíhá v podstatě od padesátých let minulého století, kdy náhrada mýdla synteticky vyrobenými látkami vedla v řadě zemí k tak významným vodohospodářským problémům, že v některých zemích byla výroba biologicky těžko rozložitelných tenzidů legislativně zakázána. Ukázalo se však, že ne všechny metody pro stanovení biologické rozložitelnosti vedou ke srovnatelným výsledkům, které by vyhovovaly potřebám praxe a odpovídaly zkušenostem z provozu čistíren odpadních vod (ČOV) a požadavkům na zachování čistoty životního prostředí. Kromě toho měly a mají tenzidy svá určitá specifika, na rozdíl od ostatních organických látek, což se dosud projevuje i v legislativě týkající se chování chemických látek v prostředí.³⁸

Vývoj metod pro posuzování biodegradability tenzidů lze rozdělit do několika generací³⁸: první generace metod pro posuzování biologické rozložitelnosti tenzidů byla založena na předpokladu, že hlavní vodohospodářský problém těchto látek spočívá v jejich povrchově

aktivních vlastnostech způsobujících pění na turbulentních místech povrchových vod a odpadních vod na ČOV. Byly proto pro hodnocení jejich biodegradability navrženy metody aplikované pro jejich stanovení ve vodách, tj. pro aniontové tenzidy reakce s methylenovou modří a později pro neionické tenzidy jejich reakce s tetrajodobismutitanem. Výsledky se vyjadřují jako MBAS (methylene blue active substance), resp. jako BiAS (bismuth active substance). Reaktivita úzce souvisí s chemickou strukturou uvedených dvou typů tenzidů. Předpokladem těchto reakcí je povrchová aktivita, tj. přítomnost delšího alifatického řetězce a dále u aniontových tenzidů přítomnost sulfoskupiny a v případě neiontových tenzidů přítomnost většího počtu oxyethylenových skupin v molekule, podílejících se na hydrofilních vlastnostech. Již malé změny v této chemické struktuře vedou ke ztrátě povrchové aktivity a tím k eliminaci jejich hlavního škodlivého vlivu z environmentálního hlediska (tj. pění), což se dříve považovalo za dostatečný argument pro používání obou metod pro zkoušky biologické rozložitelnosti. Protože však ztráta povrchové aktivity, jak podle reakce s methylenovou modří, tak i podle reakce s tetrajodobismutitanem, ještě nemusí znamenat úplný rozklad celé molekuly na oxid uhličitý a vodu, vžil se termín *primární rozklad* a hovoří se o *metodách pro stanovení primární biologické rozložitelnosti*.

Do určité míry souběžně s metodami pro stanovení primární biologické rozložitelnosti tenzidů byly vyvíjeny metody druhé generace, založené na stanovení tzv. *úplné biologické rozložitelnosti organických látek*. Principiálně jsou tyto metody založeny na sumární reakci probíhající při styku zkoušené látky s vhodně voleným mikrobiálním inokulem a za přítomnosti dostatečného množství anorganických živin (N,P):



Podle této rovnice lze úbytek substrátu biologickou cestou hodnotit:

- stanovením úbytku rozpuštěného organického uhlíku (DOC) z biologického média;
- stanovením biochemické spotřeby kyslíku (BSK);
- stanovením produkce oxidu uhličitého.

Nejlépe kvantifikovatelné je *stanovení úbytku DOC z biologického média* (ČSN EN ISO 7827, ČSN EN ISO 9888). Tímto způsobem je stanoven úbytek zkoušené látky jak její biochemickou oxidací, tak i jejím převedením do nové biomasy biochemickou syntézou. Tento způsob může být však v některých případech zkreslen adsorpcí zkoušené látky na mikrobiálním inokulu. Metoda je však použitelná jen pro látky ve vodě rozpustné. Protože při biologickém rozkladu se tvoří tzv. zbytkové organické látky, nelze dosáhnout 100 % odstranění počáteční hodnoty DOC. Pro úplný biologický rozklad byla v OECD a EU zvolena orientační mezní hodnota nejméně 70 % DOC (byla zahrnuta i do legislativy ČR), která je

však poměrně nízká.

Ostatní dvě metody hodnotí biodegradaci nepřímým způsobem, buď podle *biochemické spotřeby kyslíku (BSK)*, kterou lze stanovit v uzavřených lahvičkách (ČSN EN ISO 10707), volumetricky nebo manometricky (ČSN EN ISO 9408), nebo podle *produkce oxidu uhličitého*, stanovené buď jeho vypuzením do adsorpčního roztoku (ČSN EN ISO 9439) nebo stanovením přírůstku anorganického uhlíku v biologickém médiu. V poslední době se pro tento účel navrhuje tzv. „CO₂ headspace metoda“ (ČSN EN ISO 14593). Výsledky se vyjadřují buď v procentech teoretické spotřeby kyslíku (% TSK) nebo v procentech teoretické produkce oxidu uhličitého (% TCO₂). U organických látek bývá poměr mezi oxidací a syntézou různý. Na základě řady empirických studií byla jako mezní hodnota pro úplný biologický rozklad zvolena v OECD a EU hodnota nejméně 60 % TSK, resp. 60 % TCO₂ (stejně hodnoty jsou uvedeny i v legislativě ČR).

Metody druhé generace stanovující úplný biologický rozklad organických látek byly zahrnuty jak do metod OECD (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, poslední vydání v roce 2004), tak i do mezinárodních norem ISO EN (viz dříve). Tak postupně metody pro stanovení primárního rozkladu tenzidů zastaraly. Bylo již neúnosné posuzovat z legislativního hlediska biodegradabilitu tenzidů jinak, než je tomu u všech ostatních organických látek. Výrobci tenzidů a detergentů se jen velmi neochotně postupně přeorientovali na tuto novou koncepci. Hlavním důvodem bylo, že např. lineární alkylbenzensulfonany vykazovaly poměrně nízký stupeň úplného biologického rozkladu, který bývá na hranicích požadovaného limitu, ačkoliv primární rozklad byl vyšší než 90 %. Tyto látky byly jednou z příčinou, proč pro úplný biologický rozklad byla zvolena poměrně nízká mezní hodnota 70 % DOC, ačkoliv většina biodegradabilních organických látek vykazuje úplný rozklad v rozmezí asi od 80 % do 90 %.

Metody třetí generace jsou založeny na instrumentálních analytických postupech (obvykle HPLC a GC), které umožňují sledovat biologickou degradaci jednotlivých individuí, včetně sledování metabolitů. Podle uvedeného nařízení přicházejí v úvahu tehdy, pokud skupinové chemické reakce indikující primární rozklad nejsou použitelné vzhledem ke slabé reaktivitě zkoušeného tenzidu. Metody však nejsou blíže specifikovány s výjimkou konstatování, že se jedná o metody HPLC či GC. Tyto metody třetí generace umožňují identifikaci jednotlivých individuí, jejich homologů a dokonce i produktů metabolismu. Integrací chromatogramů lze jistě velmi dobře určit, zda bylo dosaženo úplného biologického rozkladu daného tenzidu, není však jasné, jakým způsobem mají tyto instrumentální metody určit primární rozklad.

1.2.4.3 Vlivy ovlivňující biologickou rozložitelnost

Na mechanismus a kinetiku tohoto procesu mají vliv hlavně:

1. chemická struktura dané látky (u APnEO je to druh vazby mezi hydrofilní a hydrofobní částí, struktura obou částí a počet oxyethylenových jednotek)
2. koncentrace, rozpustnost a toxicita tenzidu
3. okolní podmínky jako teplota a světlo

1. Na biologickou rozložitelnost NPnEO má z hlediska chemické struktury zásadní vliv délka oxyethylenového řetězce⁴⁰: čím méně oxyethylenových skupin molekula obsahuje, tím silnější je její lipofilní charakter a tím méně je náchylná k biodegradaci³¹. Pozornost se proto soustřeďuje na NP (nonylfenol), NP1EO (nonylfenolmonooxyethylenát) a NP2EO (nonylfenoldioxyethylenát), avšak nelze opomíjet ani NPnEO s delším oxyethylenovým řetězcem, protože jsou prekurzorem NP, NP1EO a NP2EO.

V průběhu biodegradace směsi NPnEO se mění relativní zastoupení jednotlivých oligomerů. Například při testování biodegradability směsi oligomerů s 10 a méně EO (oxyethylenovými jednotkami) v molekule bylo zaznamenáno^{31,40} přednostní vyčerpání vyšších oligomerů a hromadění oligomerů s 1 nebo 2 EO. Pozorovaná rychlost biodegradace nižších NPnEO je ve skutečnosti rozdílem rychlosti tvorby z vyšších NPnEO a rychlosti vlastní eliminace.

Biodegradace NPnEO se 3 až 20 EO v molekule se na dobře fungujících ČOV jeví jako poměrně rychlá a účinná, avšak vznikající metabolity mohou reprezentovat asi 40 %³¹, nebo dokonce přes 60 % vstupního zatížení sloučeninami NP.

Yuan a kol.³⁹ se zabývali biodegradací NP a NP1EO aerobními mikroorganismy v říčních sedimentech na Taiwanu. Zjistili, že NP a NP1EO se rozložili za 70, resp. 84 dní bez aklimatizace bakterií v sedimentu a za 28, resp. 56 dní s aklimatizací bakterií v sedimentu.

Ptáková a kol.⁴⁰ zkoumali biodegradaci NPnEO v závislosti na délce oxyethylenovaného řetězce. Zjistili, že za podmínek testu BSK nejsou rozložitelné NP1EO a NP2EO. Biodegradace NP(3-4)EO je podmíněna adaptací mikroorganismů. Za podmínek Zahn-Wellensova testu podléháají biodegradaci NP10EO i NP15EO.

Soares a kol.⁴¹ sledovali biodegradaci NP bakteriemi adaptovanými na zimu. Tyto bakterie se množí již při teplotách od 0 do 10 °C. Za těchto podmínek došlo k 53 %nímu rozkladu NP.

Ejlertsson a kol.⁴² se zabývali biodegradací NP1EO a NP2EO na městské skládce odpadů. Ve vzorcích stanovili vysokou koncentraci NP způsobenou velkým používáním

průmyslových a domácích detergentů ve městě. Také zjistili, že část NP(1-2)EO se rozložila na NP.

Ekelund a kol.⁴³ zkoumali biodegradaci 11 $\mu\text{g.l}^{-1}$ NP v mořské vodě a také v sedimentech. Teplota vody byla 11 $^{\circ}\text{C}$. Zjistili, že biodegradace byla velice pomalá, ale po 4 týdnech, když se mikroorganismy adaptovali prudce vzrostla a po 58 dnech byl NP rozložen z 50 %. V sedimentech však byla biodegradace 2x rychlejší, hlavně kvůli vyššímu počtu mikroorganismů.

Naylor a kol.⁴⁴ se zabývali biodegradací NP a NP9EO. Po 128 dnech se rozložilo 40 % NP9EO a 21 % přešlo do biomasy. Primární biologická rozložitelnost byla 87 – 97 %. Také potvrdili biodegradaci rozbitím benzenového kruhu.

Goel a kol.⁴⁵ studovali biodegradaci NPnEO v biofilmových reaktorech. Průměrný počet oxyethylenových jednotek byl 10. Po 64 dní bylo doplňováno do reaktoru 5 mg.l^{-1} . Při přístupu kyslíku se rozložilo 50 – 70 % původní látky, bez přístupu jen 30 – 50 %.

Hawrelak a kol.⁴⁶ se zajímali o biodegradaci APnEO v odpadech z výroby papíru. Vzorky získali z farmářských polí v okolí papírny a v nich stanovovali NP(0-2)EO. Také potvrdili různou schopnost biodegradace u izomerů NP.

Všechny tyto studie dokazují dříve zmíněné poznatky o snažší rozložitelnosti vyšších NPnEO a větší akumulaci NP(0-2)EO.

2. Vlivem koncentrace na biodegradaci NPnEO v říčních vodách se zabývali Manzano a kol.⁴⁷. Studovali jak primární tak úplnou biologickou rozložitelnost. Vzorky obsahovali průměrně 15 oxyethylenových jednotek a 2 – 22 oligomerů. Po 30 dnech dosáhli primární biodegradace 85% u nižších koncentrací, ale jen 65 % u vyšších koncentrací.

3. Stejní autoři se zabývali v jiné studii⁴⁸ vlivem teploty na biologickou rozložitelnost NPnEO v říční vodě. Opět studovali jak primární tak úplnou biologickou rozložitelnost a také se zabývali kinetikou. Potvrdili předpoklady, že při vyšších teplotách dochází k vyššímu stupni biodegradace. Vzrůst stupně primární biodegradace se vzrůstající teplotou dokládá následující tabulka:

Tab.VI.: Závislost stupně primární biologické rozložitelnosti na teplotě

stupeň primární rozložitelnosti (%)	okolní teplota (°C)
68	7
80	13
87	21
96	25

Vlivem světla na biodegradaci APnEO se zabývali Mann a Body⁴⁹. Zjistili, že světlo inhibuje biodegradaci. Za přístupu světla trvala biodegradace 33 dní, ale bez přístupu světla jen 19 dní.

1.3 Odběr vzorků

Po analýzách modelových vzorků a zvládnutí veškerých používaných postupů a analytických metod je třeba přistoupit k analýze reálných vzorků. Předtím než můžeme začít s izolací analytů z těchto vzorků, je potřeba tyto vzorky odněkud získat. Získání vzorků vždy zahrnuje řadu kroků jako např. odebrání vzorků, transport na místo analýzy, v případě potřeby konzervace vzorků, a jiné. Veškerý postup při těchto dílčích krocích je přesně stanoven v českých normách o jakosti vody^{50, 51, 52, 53, 54, 55}.

Než je navržen jakýkoliv odběr vzorků, je velmi důležité určit, zda má vzorek reprezentovat celou vodní plochu (např. celý tok či jezero) nebo jen dané místo. Také je důležité rozhodnout zda má jít o dlouhodobější monitorování a bude tedy potřeba vytvořit plán vzorkování nebo jen jednotlivou analýzu⁵⁰. Odběr vzorků z řek a nádrží je v normách vyčleněn zvláště^{52, 53}.

Jednorázovými odběry vzorků se získají prosté vzorky, obvykle manuálně odebírané, ale mohou být odebírány i automaticky, a to z povrchové vrstvy vody, z určitých hloubek a u dna. Každý vzorek reprezentuje jakost vody pouze v době a místě uskutečněného odběru. Jednorázové vzorky lze využít ke kontrole výskytu znečištění anebo při průzkumu zaměřeném na zjištění jeho rozsahu. Tyto vzorky mají také význam při zjištění zda jakost vody vyhovuje v dané lokalitě předepsaným limitům⁵¹.

Pro odběr vzorků se používají vzorkovnice. Vzorkovnice musí chránit vzorek před ztrátami adsorpcí a vytěkáním nebo před znečištěním okolními látkami. Vzorkovnice používaná k odběru a skladování vzorků má být zvolena až po uvážení, zda odolává teplotním extrémům, zda odolává prasknutí, zda se snadno uzavírá a otevírá, vyhovuje velikostí, tvarem,

hmotností, dostupností, cenou, zda se dobře čistí pro opakované použití apod. Používají se vzorkovnice z různých materiálů. Nízkotlaký lineární polyethylen se doporučuje pro stanovení křemičitanů, sodíku, kyselinové neutralizační kapacity, chloridů, konduktivity, pH a alkalických zemin ve vodě. Při předpokladu obsahu složek citlivých na světlo se použije sklo absorbující světlo. Korozivzdorná ocel se užije pro vzorky s vysokými teplotami anebo i pod tlakem, popř. jde-li o odběr vzorků ke stanovení stopových koncentrací organických látek. Skleněné láhve jsou vhodné pro organické sloučeniny a biologický rozbor, stejně jako vzorkovnice z plastů pro radionuklidy. Při vzorkování z řeky nebo přehradní nádrže je možné použít skleněnou láhev a s ní se při vzorkování postupuje tak, že se láhev zazátkuje a spustí do určené hloubky, tam se odstraní zátko, láhev se naplní a vytáhne⁵¹.

Vody, zvláště povrchové, odpadní a podzemní, jsou náchylné ke změnám jakosti v důsledku fyzikálních, chemických a biologických reakcí, které probíhají ve vzorku v době od odběru do jeho rozboru. Povaha a rychlost těchto reakcí jsou často takové, že nejsou-li realizována nezbytná opatření během odběru, dopravy a uchovávání, mohou se stanovené koncentrace lišit od těch, které existovaly v době odběru. Proto je nutné přistoupit k různým předběžným opatřením jak tomu zabránit a to při odběru, dopravě a skladování vzorků.

Prvním opatřením, které se provádí ještě před odběrem vzorku, je výběr vhodné vzorkovnice a její příprava před odběrem vzorku, která se skládá z vymytí a vysušení. Skleněné vzorkovnice by se měly vymývat detergentem. Další opatření se již provádí po odebrání vzorku a patří mezi ně chlazení nebo zmrazení vzorku, filtrace vzorku nebo odstředování a také přidávání konzervačního činidla. Filtrací se odstraňují nerozpuštěné látky, řasy a jiné mikroorganismy⁵⁴.

Při odběru vzorků, následné přepravě a uchovávání je potřeba se vyvarovat řady chyb, které mohou způsobit ovlivnění výsledků. Mezi nejčastější chyby patří znečištění, nestabilita, nesprávná konzervace a nesprávný odběr vzorků a také chyby při přepravě vzorků.

1.4 Extrakce oxyethylenovaných nonylfenolů a jejich rozkladných produktů z vodných vzorků

1.4.1 Kapalinové extrakce

Extrakce s použitím jen kapaliny jsou v současnosti méně používané než s použitím tuhé fáze. Patří mezi ně např. extrakce kapalina – kapalina nebo sublimace.

Postup sublatace APnEO z vody je založen na metodě podle Wickbolda⁵⁶. Obvykle se používá jeden litr vzorku s pH upraveným na 7 - 8, který je přelit 60 až 100 ml ethylacetátu. Vše probíhá v sublatační aparatuře, kterou se probublává dusík po dobu 5 - 10 minut. APnEO jsou unášeny jemnými bubinkami plynné fáze do vrstvy ethylacetátu. Celý postup se opakuje stejným způsobem třikrát vždy s čerstvou vrstvou ethylacetátu. Ke vzorku je možné pro zlepšení extrakčního výtěžku přidat chlorid sodný nebo jiný elektrolyt.

Klasická metoda kapalinové extrakce byla vyvinuta Veithem a Kiwusem⁵⁷ a aplikována Gigerem a kol.⁵⁸ pro extrakci NP a NPnEO z vody. pH vzorku byla upraveno na 7 - 7,5 a bylo přidáno 20 g chloridu sodného. 2 litry vzorku bylo protřepáno s 1 - 2 ml cyklohexanu po 3 hodiny. Pro NP, NP1EO a NP2EO byly výsledky dobré, avšak pro NP3EO byla výtěžnost jen 15%. Metoda lze použít jen pro APnEO s malým počtem EO jednotek.

Ahel a Giger⁵⁹ stanovovali oligomery NPnEO v rozsahu od NP3EO do NP20EO. Analytický vzorek byl zakoncentrován ve Wickboldově aparatuře⁵⁶. K 1 l vzorku o pH 7 - 8, bylo přilito 60 - 100 ml ethylacetátu. Poté byl vzorek probubláván dusíkem 5 - 10 minut. Proud dusíku unášel NPnEO do horní vrstvy ethylacetátu, kde docházelo k jejich zadržování. Pro zlepšení separace vzorku byl přidán NaCl. Extrakce byla opakována 3 krát. Ethylacetátové extrakty byly vysušeny bezvodým síranem sodným, poté byly odpařeny do sucha a rozpuštěny v dichlormethanu. Takto upravené extrakty byly podrobeny analýze pomocí HPLC.

Extrakce kapalina - kapalina prováděli i další autoři, přičemž principiálně vycházeli z poznatků Ahela a Gigera⁵⁹. Jako extrakční kapaliny byli používány různé látky. Wahlberg a kol.¹³⁴ použili dichlormethan, Ball a kol.⁶⁰ diethylether po okyselení vzorku na pH 1,5 a Ahel¹⁴⁷ extrahoval NPnEO pomocí chloroformu po okyselení vzorku na pH 2.

1.4.2 Extrakce tuhou fází

Ve srovnání s předchozí extrakcí je SPE výhodnější z důvodu menší spotřeby rozpouštědel, možnosti automatizace, zpracováním velkých objemů vzorků vod odpadají problémy s tvorbou emulzí. Nejčastěji používané sorbenty pro NPnEO jsou:

a) Amberlite XAD

Jones a Nickless⁶¹ použili pro extrakci APnEO sorbent typu Amberlite XAD -2, -4 a -8. Výtěžnost extrakce APnEO z vody u těchto sorbentů se pohybovala nad 80%. Před použitím bylo třeba sorbent aktivovat organickým rozpouštědlem. Objem vodného vzorku dávkovaný na kolonu se pohyboval v závislosti na velikost kolony od 1 ml do 2 ml. Eluce APnEO byla provedena pomocí směsi acetonu - vody (9:1) nebo postupně diethyletherem a methanolem.

b) Uhlík

Granulovaný aktivovaný uhlík bývá použit pro extrakci vodných vzorků velkých objemů. Graphitized carbon black (GCB) kartridže⁶² mohou být použity pro extrakci NP, NPnEO a NPnEC. Po ukončení extrakce se zachycené NPEO desorbují např. Soxhletovou extrakcí s dichlormethanem⁶³. Výhoda spočívá v tom, že je zde možnost selektivní extrakce. NP a NPnEO jsou eluovány v 1. frakci směsí dichlormethan - methanol (70:30) a v 2 frakci NPnEC směsí dichlormethan - methanol (90:10 v přítomnosti kys. mravenčí)

Ding a Chen⁶⁴ analyzovali vzorky vody znečištěné tenzidy v Tchajvanu. Bylo odebráno 500 ml vzorku a pH upraveno na 2 - 3 koncentrovanou HCl a uchovávalo při 4 °C do doby analýzy. 200 ml vzorku bylo prosáto GCB kartridží při průtoku 10 – 20 ml/min za pomoci vakua. NPnEC byly eluovány 7 ml směsí dichlormethan-methanol (9:1). K eluentu bylo přidáno 25 mM kyseliny mravenčí. Extrakt byl vysušen do sucha proudem dusíku a následně rozpuštěn ve 100 µl chloroformu s 10 mM TBA-HSO₄ (tetrabutylammonium hydrogensulphát). Vzniklé n-butyl- deriváty byly analyzovány pomocí GC-MS. Analýza byla prováděna na přístroji Varian 3400CX s MS detektorem Saturn 2000 (iontová past). Technikou split bylo dávkováno 10-20 µl vzorku s použitým dělicím poměrem 1:10. K separaci byla použita kolona DB-5MS (30m x 0,25 mm x 0,25 µm). Teplotní program byl 100 °C (3 min), 7 °C/min, 300 °C (7 min). Teplota nástřiku byla 300 °C a přesnost stanovení se pohybovala v rozmezí 3 – 15 %.

Di Corcia a kol.⁶⁵ použili GCB kartridže pro extrakci NP, NPnEO a NpnEC z vodných vzorků. Výhoda této extrakce spočívá v dosažení vysoce selektivní extrakce. NP a NPnEO jsou eluovány v první frakci směsí dichlormethan - methanol (70:30) a v druhé frakci NPnEC směsí dichlormethan - methanol (90:10 v přítomnosti mravenčí kys.). Pokud byly přítomny lineární alkylbenzensulfonáty jsou eluovány ve třetí frakci směsí dichlormethan – methanol (90:10 v přítomnosti tetramethylammonium hydroxidu).

c) Oktadecylsilikagel C₁₈ (ODS)

Marcomini a Di Corcia, Samperi a Capri⁶⁶ použili ODS kartridže pro extrakci NP, OP, NPEO a NPEC z vodných vzorků. K extrakci bylo použito 1 g ODS kartridže aktivované 5 ml acetonitrilu, 5 ml methanolu a 10 ml vody. Přefiltrované množství vzorku (10 ml až 1 l) bylo prosáto přes kolonu průtokem 10 a 30 ml/min. NPnEO byly eluovány 5 ml methanolu. (Pro eluci NPEC bylo třeba upravit pH vzorku na hodnotu 2).

Kubeck a Naylor⁶⁷ popsali dvojitý kolonový proces pro extrakci APnEO (n = 1 - 17). První kolona obsahující měnič iontů (Biorad o zrnitosti 20 - 50 mesh) byla použita na odstranění iontů obsažených ve vzorcích vod. APnEO byly adsorbovány na druhé koloně (0,7 g ODS) a

byly eluovány za tepla (55 °C) methanolem.

Kristad a kol.⁶⁸ extrahovali AP pomocí SPE kolonky obsahující polystyren - divinyl benzen. Extrakční kolonky byly promyty směsí dichlormethan – methanol (1:1) a methanol – voda (1:1). Po extrakci vzorku voda byla kolonka promyta směsí methanol – voda (50:50) a vysušena proudem dusíku po dobu 15 min. Eluce byla pak provedena směsí methanol – dichlormethan (1:1). Eluát byl odpařen na objem 1 ml a zředěn vodou na koncentraci 10-20 %. Analýza byla provedena pomocí reverzní fáze RP-C18 (kolona 244mm x 4,0 mm, 5µm částice; předkolona 20 mm x 4,6 mm). Jako mobilní fáze byla použita směs acetonitril – 10 mM fosfátový pufr, pH 4 v poměru (78:22), průtok mobilní fáze byl 1ml/min. UV detektor byl nastaven na vlnovou délku 278 nm. Metoda je použitelná pro 4-n-hexylfenol, 4-terc-octylfenol a 4-nonylfenol v koncentračním rozpětí 1 – 100 µg.l⁻¹. Přesnost metody byla 1 – 3 % RSD. Detekční limit byl 0,1-0,2 µg.l⁻¹.

1.5 Metody pro stanovení oxyethylenovaných nonylfenolů

1.5.1 Spektrofotometrické stanovení

První fotometrické metody vznikaly modifikací gravimetrických metod. Shaffer a Critchfield⁶⁹ v kolorimetrické modifikaci rozpouštějí vzniklou sraženinu APnEO s kyselinou molybdatofosforečnou v koncentrované kyselině sírové. Po následné neutralizaci 40 %ním roztokem NaOH na fenolftalein jako indikátor se molybden stanoví po reakci s fenyldiazinem kolorimetricky jako molybdenová modř.

Stevenson⁷⁰ modifikoval gravimetrickou metodu⁷¹ a vypracoval dvě kolorimetrické metody. V prvním případě rozpustil sraženinu, která vznikla srážením polyoxyethylenových derivátů kyselinou molybdatofosforečnou v koncentrované kyselině sírové a po 40 min. měřil absorbanci fialově zbarveného roztoku při vlnové délce $\lambda = 520$ nm. Druhá metoda byla založena na přímém stanovení molybdenu v molybdatofosforečném komplexu s rhodanidem amonným v přítomnosti SnCl₂. Absorbance molybdenthiokyanátu byla změřena po 20 min. při vlnové délce 470 nm. Práce byla prováděna jak ve vodném tak i v nevodném prostředí, kdy vzniklý komplex byl vyextrahován do butylacetátu, který byl nasycen rhodanidem amonným a SnCl₂. Tato metoda byla citlivější než metoda využívající srážení v prostředí kyseliny sírové. Jako rušící složky byly zjištěny alkylsulfáty a karboxymethylcelulóza, která zabraňuje srážení neionických tenzidů.

Spektrofotometrické metody jsou nejrozšířenější v analýze vod. Jsou založeny na reakci

hydrofilního polyethylenového řetězce, kdy etherově vázané kyslíky reagují za daných podmínek jako polyoxoniové sloučeniny. Reakce je založena na skutečnosti, že v kyselém prostředí vystupují polyethylenoxidové sloučeniny jako zásady, protože dochází k protonizaci atomu kyslíku ve vazbě $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ za tvorby oxoniové soli, která může podléhat nukleofilní substituci vhodným aniontem. Jako srážecí anionty se používají heteropolykyseliny, tetrajodobismutitany, tetrajodortuťnatany a tetrathiokyanátokobaltnatany. Nevýhodou těchto metod je malá citlivost k nízkým koncentracím neiontových tenzidů. Mezi nejběžnější používané spektrofotometrické metody patří metody založené na srážení tetrajodobismutitanem draselným a tetrathiokobaltnatánem amonným či heteropolykyselinami jako jsou wolframofosforečná, wolframatofosofrečná či wolframatokřemičitá. Princip všech metod je stejný: mezi srážecím činidlem a tenzidem vzniká komplex, který se izoluje a poté se stanoví obsah kovu (Bi, Co, Mo, W ...).

O nové modifikace spektroskopických metod se pokusili např. Zhu a kol.⁷², kteří vyvinuli metodu pro přímé stanovení APnEO v odpadních vodách. Metoda je založena na tvorbě ternárního komplexu mezo-tera-(3,5-dibrom-4-hydrooxyfenyl)-porphyrinalkylfenol-polyethoxylátu olovnatého. Vznikají žluté ternární komplexy s absorpčním maximem při vlnové délce 479 nm. Barevná reakce je rychlá a barva zůstává stabilní 24 hodin za pokojové teploty. Mez detekce je 0,02 $\mu\text{g/l}$. Jelikož se jedná o přímé stanovení, je výhodou, že odpadá extrakční krok. Nevýhodou jsou možné rušící vlivy anionických a kationických tenzidů.

Yokoyama a kol.⁷³ stanovovali APnEO v odpadních vodách po SPE a tvorbě komplexu s thiokyanátem železitým. Absorbance byla měřena oproti toluenu při vlnové délce 510 nm.

1.5.1.1 Trijodidová metoda

Tato metoda využívá tvorby barevného komplexu mezi trijodidovým aniontem a polyoxyethylenovým řetězcem v molekule neionických tenzidů. Zdrojem trijodidových aniontů je činidlo obsahující jod a jodid draselný. Absorbance vybarveného vzorku je úměrná koncentraci neionických tenzidů a měří se po uplynutí stanovené reakční doby při vhodné vlnové délce, která závisí na použitém rozpouštědle.

Stanovení neionických tenzidů trijodidovou metodou je velmi jednoduché z hlediska provedení analýzy a umožňuje operativní získání výsledků, avšak je nutné před vlastní analýzou eliminovat případné rušivé vlivy a také srovnatelnost výsledků s jinými metodami nemusí být vždy uspokojivá. Tento fakt však souvisí s tím, že se jedná o skupinová stanovení. Případné rozdíly ve stanovených hodnotách mohou být důsledkem rozdílné citlivosti každé z metod vůči tenzidům o různé struktuře (zejména délce oxyethylenového řetězce) a

specifického zatížení rušivými vlivy určitých látek, přítomných ve vzorku. Trijodidovou metodu tedy lze doporučit pouze pro tzv. první kontakt se vzorkem, který slouží např. k odhadu vhodného ředění před další analýzou, nebo pro orientační stanovení koncentrace neionických tenzidů ve vodách.

Stanovení neionických tenzidů s jod-jodidovým činidlem bylo patrně poprvé publikováno Baleuxem v roce 1972⁷⁴. Postup nezahrnoval žádnou separaci, absorbance byla měřena přímo ve vzorku po přidavku činidla, a to při vlnové délce 500 nm. Bez ředění vzorku bylo možné stanovit neionické tenzidy v koncentračním rozsahu 1 mg·l⁻¹ až 20 mg·l⁻¹.

Později byly vypracovány další varianty trijodidové metody, které zahrnují extrakci vznikajících komplexů a spektrofotometrické vyhodnocení extraktu. Tuto variantu použili např. Boyd-Bolandová a Eckert⁷⁵, kteří tenzidy extrahovali do 1,1,1-trichlorethanu jako adukty s trijodidem draselným a poté měřili absorbanci při vlnové délce 380 nm. Podařilo se jim zvýšit citlivost a stanovili koncentrace neionických tenzidů od 0,1 mg·l⁻¹ do 1 mg·l⁻¹. Extrakce je navržena pouze jednostupňová a její účinnost dosahuje 97 %.

Trijodidová metoda je použitelná pro stanovení neionických tenzidů, které v molekule obsahují 2 až 80 oxyethylenových skupin⁷⁶. Analogicky jako ostatní skupinová stanovení však vykazuje rozdílnou citlivost na jednotlivé oligomery v závislosti na jejich stupni oxyethylenace. Nejmenší odezvu poskytují nízkooxyethylenované molekuly.

Osvědčila se např. při sledování průběhu biodegradace neionických tenzidů na bázi oxyethylenovaných alkoholů i alkylfenolů, obsahují-li více než 5 oxyethylenových skupin v molekule⁷⁷. Modifikace zahrnující extrakci do trichlorethanu a je doporučována na sladkovodní i mořské vzorky vody⁷⁵, v nichž mohou být přítomny i anionické tenzidy (nezpůsobují významné interference). Autoři práce pouze upozorňují na nutnost chránit extrakt před světlem a zabránit vypařování rozpouštědla.

Kujalová a kol.⁷⁸ vypracovali metodiku stanovení neionických tenzidů s trijodidovým aniontem ve fotometrických zkumavkách, a to v provedení jak bez separačního kroku, tak po extrakci do trichlorethanu, vycházející z práce Boyd-Bolandové a Eckerta⁷⁵. Pozornost věnovali následujícím okruhům: mezi stanovení, časové závislosti absorbance a stabilitě činidla. Pro porovnání byly uvedené parametry zjišťovány i v případě modifikované metody s Dragendorffovým činidlem. Zjistili, že předností trijodidové metody bez separace je jednoduchost a rychlost provedení, avšak použití této metody je omezeno pouze na vzorky, u nichž lze zanedbat uplatnění rušivých vlivů. Proto ji v praxi lze využít dost zřídka, většinou jen pro orientační stanovení, případně pro odhad vhodného ředění vzorku pro analýzu jinou metodou. Extrakční varianta trijodidové metody sice zahrnuje eliminaci rušivých vlivů a

pracovní postup je rovněž poměrně nenáročný, avšak zásadní nevýhodou je práce s rozpouštědlem, které je škodlivé pro člověka a nebezpečné pro životní prostředí.

1.5.1.2 Metody s tetrathiokyanátokobaltnatanem amonným

Absorpční spektrometrie s tetrathiokyanátokobaltnatanem amonným je metoda využívající thiokyanatanu amonného a dusičnanu kobaltnatého, které spolu s polyoxyethylenovými sloučeninami vytvářejí modré komplexy. Vzniklé sloučeniny jsou extrahovatelné do organického rozpouštědla a vyhodnoceny spektrofotometricky.

Brown a Hayes⁷⁹ extrahovali vysrážené tenzidy do chloroformu, intenzitu modrého zbarvení měřili spektrofotometricky ve viditelné (620 nm) a ultrafialové (318,5 nm) oblasti spektra. Jako srovnávací roztok použili chloroform. Autoři uvedli, že pozitivní reakci dávají i nějaké kvarterní amoniové soli. Zjistili, že tato metoda je málo citlivá a vybarvení komplexu je závislé na teplotě a přímém slunečním světle. Nevýhodou byla i nutnost používání přebytku činidla a vícenásobná extrakce.

Pitter a Šulcová-Banovičová⁸⁰ vzniklý komplex extrahovali do 1,2-dichlorethanu. Upozornili však na nízkou citlivost metody, pokud je měření prováděno ve viditelné oblasti spektra (620 nm). Zjistili, že přechodem měření do oblasti ultrafialového světla se mnohonásobně zvýšila citlivost metody.

Morgan⁸¹ modifikoval postup Browna a Hayese⁷⁹ a zvolil jako extrakční činidlo benzen. Při této metodě se komplex izolovaný benzenem rozkládal vodou a kobalt přítomný ve vodném roztoku se stanovil jako komplex se solí kyseliny 1-nitroso-2-naftol-3,6-disulfonové. Absorbance byla změřena při vlnové délce 500 nm.

Milwidski⁸² uveřejnil rychlou metodu na kontrolu neionických tenzidů v pracích prostředcích. Jako činidlo používal směs thiokyanatanu amonného a dusičnanu kobaltnatého v roztoku o pH 5 a extrakční činidlo dichlormethan. Přičemž absorbance vzniklého extraktu byla proměřena při vlnové délce 600 nm. Jako rušící složky byly zjištěny kationické a anionické tenzidy. Stupeň rušení je závislý i na koncentraci těchto složek přítomných ve vzorku.

Favretto a Tunis⁸³ detailně vypracovali metodu na stanovení neionických tenzidů pomocí kyseliny pikrové. Vzniklý komplex polyoxyethylenovaných sloučenin a kyseliny pikrové extrahovali do 1,2-dichlorethanu. Měřili absorbanci organické fáze při vlnové délce 378 nm. Zjistili, že pikrátový extrakt je stálý několik dní a metoda je vhodná pro roztoky tenzidů o koncentracích 0,1 – 1 mg.l⁻¹.

Většina autorů se shoduje při hodnocení jednotlivých metod stanovení neionických

tenzidů, že všechny navrhované metody se zakládají na stejném principu, na reakci hydrofilního polyoxyethylenového řetězce, kde etherově vázané kyslíky mohou za určitých podmínek reagovat jako polyoxoniové sloučeniny. A že citlivost metod závisí na počtu adovaných molekul ethylenoxidu v molekule neionogenního tenzidu a s jejich klesajícím počtem se snižuje.

V posledním čase se podrobněji rozpracovala metoda dle Pittera⁸⁰, kdy na tomto základě je uváděna v amerických standardních metodách pro analýzu vod⁸⁴ jako metoda CTAS. Látky označované jako CTAS (**C**obalt **T**hiocyanate **A**ctive **S**ubstances) jsou ty, které reagují s vodným roztokem thiokyanatokobaltnatanu za vzniku produktu extrahovatelného do organické kapaliny. Tento komplex je stabilní díky sekundárním valenčním silám, poutajícím etherové kyslíky k centrálnímu atomu kobaltu. Hydrofóbní skupina neionických tenzidů uděluje této sloučenině lipofilní vlastnosti, takže může být extrahována z vodné fáze do organické (1,2-dichlormethanu), ve které je měřena spektrální fotometrií ve viditelné oblasti spektra při vlnové 620 nm. Intenzita zbarvení závisí na počtu adovaných molekul ethylenoxidu v neionickém tenzidu a na koncentraci tenzidu. Postup se dá zjednodušeně posat takto: tenzidy se vyextrahují do ethylacetátu, ten se odpaří, odparek se rozpustí v dichlormethanu, roztok se extrahuje s činidlem, oddělí se organická fáze a změří se absorbance oproti dichlormethanu. Jako standard se doporučuje tenzid o délce alkylového řetězce C₁₂ - C₁₈ a s 11 oxyethylenovými jednotkami. Mez detekce je potom 0,1 mg CTAS.

Metoda s tetrathiokyanátokobaltnatanem je podle některých autorů málo citlivá, výsledky je možné těžko reprodukovat a reprodukovatelnost je závislá na teplotě. Přičemž byly vypracovány varianty na zlepšení těchto nevýhod, při kterých se vliv rušících faktorů eliminoval a dosáhla se tak vyšší citlivost stanovení. Bylo zjištěno, že metoda CTAS je citlivá na alifatické i aromatické řetězce a v obou případech potvrdila závislost odezvy použité metody na počtu oxyethylenových jednotek v molekule tenzidu.

1.5.1.3 Metody s tetrajodobismutitanem draselným

Neionické tenzidy reagují s aniontem BiI₄⁻ za vzniku žlutě zbarvených málorozpustných komplexních sloučenin, jejichž koloidní roztok se turbidimetricky vyhodnotí. Citlivost metody závisí na počtu adovaných molekul ethylenoxidu.

Wickbold⁸⁵ vyvinul metodu obecně známou jako Wickboldova metoda nebo metoda BiAS z anglického Bismuth active substances, tedy „látky aktivní na bismut“. Z tohoto postupu vychází i naše norma pro stanovení neionických tenzidů. Principem metody je vysrážení tenzidů Dragendorffovým činidlem (KBiI₄ + BaCl₂ + KBiI₄ + CH₃COOH). Vzniklá sraženina

se oddělí a bismut se stanoví.

Celý postup metody obsažený ve zmíněné normě je následující: tenzidy se sublatují ze vzorku vzduchem do vrstvy ethylacetátu, kde se zakoncentrují. Jelikož jsou neionické tenzidy díky své hydrofilní skupině dobře rozpustné ve vodě, zvyšuje se účinnost sublatace přidávkem neutrální soli, např. $\text{NaCl} + \text{NaHCO}_3$. Sublatace je založena na tom, že tenzidy jako povrchově aktivní látky se snadno adsorbují na fázovém rozhraní vzduch - voda, tedy na povrchu bublin procházejícího vzduchu a jsou unášeny do vrstvy ethylacetátu, kde se rozpustí. Organická vrstva se oddělí, přefiltruje a odpaří do sucha. V odparu zůstávají zkoncentrované tenzidy. Odparek se rozpustí v destilované vodě s 5 ml methanolu a přidá se zředěná kyselina chlorovodíková. Po promíchání se nadávkuje Dragendorffovo činidlo. Vzniklá sraženina se zfiltruje a rozpustí horkým roztokem vinanu amonného. K tomuto roztoku se přidá několik kapek bromkresolového purpuru a roztok amoniaku do fialového zbarvení a titruje se roztokem pyrrolidin-1-yl thiokarboxylanu sodného do významně znatelného poklesu potenciálu. Bod ekvivalence udává průsečík tečen obou větví potenciálové křivky. Alternativními metodami stanovení bismutu jsou atomová absorpční spektrofotometrie a spektrofotometrické stanovení v ultrafialové oblasti. V prvním případě se sraženina na fritě rozpustí koncentrovanou kyselinou dusičnou a stanoví se obsah bismutu v tomto roztoku. Ve druhém případě se sraženina rozpustí horkým vinanem amonným, přidá se kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA) a absorbance se měří v 20 mm kyvetách při vlnové délce 263,5 nm oproti vodě. Metoda BiAS je oproti metodě CTAS pomalejší a náročnější na vybavení, ale je více citlivá a reprodukovatelná a odpadá nebezpečí vysoké těkavosti dichlormethanu.

Další metoda byla vyvinuta Watersem a Longmanem⁸⁶, kteří použili Wickboldovu techniku⁸⁵. Rezidua rozpustili v 5 ml methanolu. Následně přidali 40 ml vody a 3-5 kapek brom-kresolového purpuru. pH upravili 0,2 M HCl, až se indikátor zbarvil do žluta. Poté přidali 30 ml Dragendorffova činidla. Po vysrážení byla sraženina odfiltrována a promyta ledovou kyselinou octovou. Sraženina byla poté rozpuštěna vinanem amonným, přidáno 4 ml 0,02 M EDTA. Absorbance se měřila ve 2 cm kyvetách při 263,5 nm.

1.5.2 Chromatografické stanovení

1.5.2.1 Stanovení plynovou chromatografií

U APnEO je těkavost často na hranici potřebných hodnot. Pro neionické tenzidy s nízkým stupněm oxyethylenace lze použít přímo, látky s vysokým stupněm oxyethylenace musejí být

v GC předem derivatizovány a tak převedeny na těkavější sloučeniny, jako např. acetáty, trimethylsilylderiváty, methylethery.

Metoda je tedy aplikována pro analýzu buď volných nebo derivatizovaných APnEO, NP a OP. Je tedy vhodná i k analýze produktů biologické degradace. Oproti LC se tato metoda využívá z důvodů lepší separace jednotlivých oligomerů. Je možné využít plamenový ionizační detektor, detektor elektronového záchytu, případně spojení GC/MS s elektronovou ionizací, chemickou ionizací pozitivních iontů a chemickou ionizací negativních iontů.

Pro analýzy GC lze také využít rozštěpení molekuly pomocí HBr podle rovnice:



Fendinger a kol.⁸⁷ použili podobnou metodu pro analýzu APnEO v povrchových a odpadních vod. Vzorky extrahovali tuhou fází a poté nechali reagovat s HBr. Vlastní analýza GC byla s detekcí MS-EI.

Pro vysokoteplotní GC se vzorky derivatizují za vzniku trimethylsilyl derivátů. Činidly jsou např. trimethylchlorsilan (TMCS) a hexamethyldisilazan (HMDS). Po derivatizaci se vzorky analyzují pomocí GC/MS-CI a používaná teplota je až 400 °C.

Espejo a kol.⁸⁸ stanovovali 18 izomerů nonylfenolů v ženevských odpadních vodách. Použili k tomu plynový chromatograf s kapilární kolonou SGE BPX-5 (60 m x 0,32 mm x 0,25 μm). Teplotní program byl 70 °C (1 min), 4 °C.min⁻¹, 280 °C (10 min). Detekci a identifikaci provedli s využitím hmotnostního spektrometru. Nalezená průměrná koncentrace nonylfenolů byla 2,5 μg.l⁻¹.

Stancher a Favretto⁸⁹ analyzovali oxyethylenovaný 4-*tert*-nonylfenol pomocí dvou chromatografických metod: plynovou a tenkovrstvou chromatografií. Pomocí plynové chromatografie separovali nižší oxyethylenované adukty. Vyšší, které jsou méně těkavější, pak pomocí TLC. TLC selhává pro nižší adukty. Pro GC analýzu byl použit FID, kolona s nerezové oceli délky 35 cm s náplní 6 % hmot. silikonového elastomeru UCW98 na nosiči Gas - Chrom 80 – 100 mesh, T_{INJ.} = 400 °C, T_{DET.} = 375 °C a lineárního programu (150 – 350 °C, 10 °C/min). Nosný plyn N₂ 40 ml/min.

Stephanou⁹⁰ identifikoval a stanovil halogenovaná a nehalogenovaná rezidua oxyethylenovaných 4-nonylfenolů pomocí GC/MS s využitím chemické ionizace, kdy jako reakční plyn použil methan. Vzorek vody byl extrahován s methylen chloridem, poté byl extrakt okyselen na pH 2 pomocí H₂SO₄ a extrakce byla opakována. Extrakt byl vysušen bezvodým Na₂SO₄, filtrován přes papírový filtr a zakoncentrován na 1-2 ml v rotační odparce. Analýza GC/MS byla provedena za přídavku interního standardu 2,4,6-tribromfenolu (TBP). Halogenovaná rezidua oxyethylenovaných oktylfenolů byla

analyzována stejným způsobem. Pro analýzu byl použit hmotnostní spektrometr s EI/CI iontovými zdroji. Byla použita kapilární křemenná kolona Durabond-5. Podmínky chemické ionizace byly následující: methan o tlaku 76 Pa, teplota iontového zdroje byla 120 °C, energie ionizace 62 eV. Rozsah snímaného spektra $m/z = 100 - 500$, skenování po 2 s. U jednotlivých hmotnostních spekter byl popsán fragmentační mechanismus.

Stephanou a Giger⁹¹ analyzovali vzorek NP a NPnEO (n o průměru 3,15 oxyethylenových jednotek) na skleněné kapilární koloně (15 m x 3 mm). Kolona byla deaktivována silylací a stacionární fázi tvořil imobilizovaný OV-73 a detekce byla provedena pomocí FID. Chromatogram ukazoval pět skupin píků, v závislosti na postupné eluci dle měnící se molekulové hmotnosti. Byla určena struktura některých isomerů lišících se rozvětvením nonylového řetězce.

Ayorinde a Elhilo⁹² stanovili detekční limity komerčních oxyethylenovaných 4-nonylfenolů pomocí MALDI/TOF/MS (matrix-assisted laser desorption ionization /time-of-flight/mass spectrometry) techniky. Použili 17 komerčních NPnEO, mající obecný vzorec $4-(C_9H_{19})-C_6H_4-(OCH_2CH_2)_n-OH$. NPnEO byly rozpuštěny ve směsi acetonitril - tetrahydrofuran (3:1) a smíchány s matricí kyano-4-hydroxyskořicová kyselina, rozpuštěná v acetonitril - tetrahydrofuranové směsi. MALDI-TOF produkovala ve spektru zejména $[M+Na]^+$ ionty. Pro NPnEO, kde se vyskytují 3-10 oxyethylenovaných jednotek, byly detekovány v množství 10 mg.l^{-1} , kdežto sloučeniny obsahující 8-15 oxyethylenovaných jednotek, byly detekovány v množství 30 mg.l^{-1} .

Ding a Tzing⁹³ stanovovali NPnEO a produkty jejich biodegradace pomocí GC/MS – EI nebo CI v říční vodě. K extrakci použili SPE kartridže s GBC, k derivatizaci propanol/acetylchlorid a MS bylo s iontovou pastí. Tato metoda se ukázala vhodnou ke stanovení jak NPnEO, tak i NPnEC.

Wahlberg a kol.⁹⁴ provedl analýzu APnEO a jejich metabolitů. Detegoval pentafluorbenzyl (PFB) etherové deriváty 4-nonylfenolů na koloně DB-5 o délce 30 m. Detekční limit této metody byl 20 pg. Dále připravoval heptafluorobutyryl- a pentafluorobenzoyl- deriváty pro určení NP a NPnEO (n = 1-6 oxyethylenových jednotek) ve vodných roztocích, vzorcích půd a biologických vzorcích. Pentafluorobenzoyl- deriváty měly sice delší retenční časy, ale dávaly lepší možnost využití ECD detektoru.

Valero⁹⁵ se zabýval analýzou alkyfenolů s 0-2 oxyethylenovanými jednotkami pomocí HRGC/MS(EI). Vzorky byly převedeny do nerezové nádoby a uchovávány při 4 °C. K 1,5 l vzorku, upraveného na pH 12 10 % hydroxidem sodným, bylo přidáno 25 μl směsi nitrobenzen- d_5 , 2-fluorobifenyl a 4-*tert*-fenyl- d_{14} jako interní standardy. Extrakce byla

uskutečněna v dělicí nálevce dichlormethanem 2x150 ml. Organický extrakt byl zakoncentrován na objem 10 ml a přelit přes čistící kolonu plněnou florisilem (aktivovaným zahřátím na 500°C) a bezvodý síran sodný (sušen 18 h při 300°C). Následně bylo přidáno 2,5 µl značeného antracenu-d₁₀ k ověření reprodukce nástřiku. Nakonec byl roztok nakoncentrován na objem 25 µl proudem dusíku. Vlastní analýza byla prováděna na přístroji HP5890 Series II vybaveného kolonou HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Průtok nosného plynu byl konstantně 1 ml/min, teplota nástřiku 250 °C, teplotní program (1 min 60 °C, 4 °C.min⁻¹, 290 °C). Objem nástřiku 2 µl. Touto metodou byly stanoveny APnEO ve stopových množstvích (µg.l⁻¹).

Vysokotlakou extrakci rozpouštědlem a následnou analýzu GC/MS využili pro stanovení NP v sedimentech Ding a Fann⁹⁶. NP extrahovali methanolem při teplotě 100 °C a tlaku 100 kPa. K separaci použili kapilární kolonu DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) a teplotní program 100 °C (3 min), 7 °C.min⁻¹, 300 °C (7 min). Výtěžnosti této extrakce byli kolem 100%. Při porovnání této extrakční metody s extrakcí pomocí ultrazvuku a Soxhletovou vychází jako jasně nejrychlejší.

Chaloux a kol.⁹⁷ stanovovali oxyethylenované nonylphenoly v odpadních kalech, řekách i sedimentech. Vysušený vzorek byl extrahován v Soxhletově extraktoru s dichlormethanem a methanolem (2:1) po dobu 24 hod. Organický extrakt byl v rotační odparce odpařen na malý objem, zakoncentrován a vysušen pod proudem dusíku. Frakce byla rozdělena a I následně vysušena na koloně s 8 g neutrálního Al₂O₃ a 1,5 g Na₂SO₄. Dále byla provedena derivatizace s použitím PFBBr (pentafluorobenzylbromidu). Se vzorkem bylo smíšeno 100 ml acetonu obsahujícího 5 % PFBBr, 100 ml 10 % K₂CO₃ a 1,5 ml acetonu. Takto připravená směs byla zahřívána na 60 °C po dobu 1 hod. Analýza derivatizovaného oxyethylenovaného nonylfenolu byla provedena na kapilárním plynovém chromatografu s ECD detektorem (Model 7673A, Hewlett-Packard). Kapilární křemenná kolona (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm.), se stacionární fází DB-5. Průtok nosného plynu He byl nastaven na rychlost 30 cm.s⁻¹. Teplotní program 70 °C, 20 °C.min⁻¹, 130 °C a poté do 280 °C, 6 °C.min⁻¹ a do 310 °C, 15 °C.min⁻¹. Provedli také analýzu pomocí GC-MS s využitím chemické ionizace, kdy jako reakční plyn použil methan (2,25 MPa). Kapilární křemenná kolona (30 m x 0,25 mm, 25 µm), stacionární fáze DB-5MS. Teplotní program: 70 °C, 20 °C.min⁻¹, 130 °C a poté do 250 °C, 6 °C.min⁻¹ a do 300 °C, 10 °C.min⁻¹. Rozsah snímaného spektra m/z 205 - 400.

Hawrelak⁹⁸ zkoumal výskyt oxyethylovaných alkylfenolů na polích v okolí továrny na recyklaci papíru, kde se využívají na odstranění barvy.

Vzorek půdy byl předložen do celulózové vložky v Soxhletově extraktoru a extrahován 6 hod dichlormethanem. Vzorek byl pak odpařen na 5 ml, přefiltrován a znovu odpařen v proudu dusíku na 1 ml. Extrakt byl rozdělen na 2 díly: první díl byl acetylován a analyzován GC-MS pro potřeby identifikace 4-NP a 4-*tert*-OP, druhý díl byl přímo analyzován pomocí HPLC a byly stanoveny obsahy NP1EO a NP2EO.

Acetylace byla provedena přidáním 10 mg 1 % uhličitanu draselného a 0,1 ml anhydridu kys. octové. Po derivatizaci byly přidány 2 ml 1 % uhličitanu draselného a směs byla míchána 15 s. Organická vrstva byla vysušena v Pasteurově pipetě (2 ml) plněné bezvodým síranem sodným. Vzorek byl vypláchnut hexanem a zakoncentrován na objem 0,5 ml proudem dusíku. Acetylovaný vzorek byl následně přečištěn kolonou plněnou silikagelem. Analýza byla prováděna pomocí GC MS (SIM – mode) s kolonou DB-5 (30 m). Byly vypočítány detekční limity pro 4-NP $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a pro 4-*tert*-OP $0,001 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. NP1EO a NP2EO byly analyzovány HPLC s fluorescenční detekcí (excitace $\lambda=230 \text{ nm}$, emise $\lambda=300\text{nm}$), kolonou Hypersil APS (10 m x 2,1 mm x 5 μm), průtokem mobilní fáze $0,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ (hexan/2-propanol 98:2 m/m.). Detekční limity byly $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pro NP1EO a $0,005 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pro NP2EO.

Reinhard a Goodman⁹⁹ analyzovali APnEO. Vzorek vody byl okyselen na pH 2 koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a následně odstraněn chlorovodík pomocí dusíku. Izolace byla provedena pomocí SPE na koloně Amberlite XAD-8 a zachycené extrakty byly eluovány pomocí acetonu. Aceton byl odpařen a extrakt byl rozpuštěn v dichlormethanu. APnEO byly derivatizovány diazomethanem a analyzovány pomocí GC/MS. Na kolonu byly nastříknuty 2 μl směsi derivátů. Teplotní program byl $50 \text{ }^\circ\text{C}$ (3 min), $3 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, $300 \text{ }^\circ\text{C}$. Teplota nástřiku byla $260 \text{ }^\circ\text{C}$ a interfaceu $300 \text{ }^\circ\text{C}$.

Kawaguchi a kol.¹⁰⁰ stanovovali 4-NP a 4-*tert*-OP ve vodných vzorcích po předchozí extrakci a pomocí analýzy GC/MS s termální desorpcí. Detekční limity této metody byli $0,02 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ pro NP and $0,002 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ pro OP. Výtěžnosti extrakce se pohybovali kolem 97 %. Použili kapilární kolonu DB-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) a teplotní program $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (1 min), $60 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, $280 \text{ }^\circ\text{C}$ (5 min).

Potter a kol.¹⁰¹ sledovali degradační produkty oxyethylenovaných nonylfenolů. Bylo zjištěno, že enzymovou hydrolýzou se nejprve odštěpují oxyethylenované jednotky. Tři nejběžnější skupiny intermediátů jsou: 4-nonylfenol, oxyethylenované nonylfenoly mající 1 - 4 oxyethylenované skupiny, série oxyethylenovaných karboxylátů jako 4-nonylphenoxyoctová kyselina (NP1EC) a 4-nonylphenoxyethoxyoctová kyselina (NP2EC).

Tyto produkty byly následně extrahovány pomocí SPE (LC-18) a eluovány methanolem. Extrakty byla analyzovány pomocí HPLC s diode-array detektorem. Vlnová délka použitá pro kvantifikaci byla 224 nm. Detekční limit 0,050 mg.l⁻¹. Analýza byla provedena i pomocí GC. Z NP1EC a NP2EC byly připraveny methylestery (reakcí se směsí methanolu s HCl); NP, NP1EO a NP2EO byly acylovány (reakcí s acetanhydridem za přítomnosti 2 % K₂CO₃). Podmínky analýzy: kolona DB5MS (30 m x 0,2 mm x 0,25 μm); teplota nástřiku 280 °C; teplotní program: 60 °C (1 min), 4 °C.min⁻¹, 290 °C (1 min); nosný plyn He. Detekční limit byl 0,010 mg.l⁻¹.

Stopovou analýzou NP za využití kombinace SPME a GC/MS se zabývali Braun a kol.¹⁰². Křemenná vlákna pro SPME zvolili s polyakrylátem, polydimethylsiloxanem a polydimethylsiloxandivinylbenzenem. Pro extrakci NP se ukázalo jako nejvhodnější vlákno s polydimethylsiloxanem. Teplotní program kolony byl následující: 50 °C (1 min), 20 °C/min, 140 °C (1 min) a poté 10 °C.min⁻¹, 290 °C (8 min). Kapilární kolonu použili HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm). Detekční limit byl 1 μg.l⁻¹.

Harold a kol.¹⁰³ se zabýval chlorovanými deriváty oxyethylenovaných alkylfenolů. Ke vzorku vody (100 ml) byly přidány 2 g NaCl, 10 kapek H₂SO₄ (pH 1,5) a 20 ml diethyletheru. Směs byla třepána 20 minut. Etherová vrstva byla oddělena, vysušena bezvodým Na₂SO₄ a přefiltrována přes papírový filtr. Extrakce byla provedena 3 krát. Extrakty byly spojeny a zakoncentrovány na objem 5 ml za sníženého tlaku při teplotě 30 °C, odpařeny do sucha v proudu dusíku a rozpuštěny v 1 ml směsi ether – ethanol (1:1). Separace byla provedena pomocí kombinace GC s MS na koloně DB-5 (30 m x 0,33 mm x 0,25 μm). Objem nastříkovaného vzorku byl 1 μl, nosný plyn He (přetlak 0,5 bar), teplotní program (70 °C (1 min), 3 °C.min⁻¹, 300 °C)

Moeder a kol.¹⁰⁴ se pokusili identifikovat izomery nonylfenolů pomocí GC/MS. Použili k tomu GC s kapilární kolonou HP5-MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) a s hmotnostním detektorem s iontovou pastí. Teplotní program byl 50 °C (3 min), 15 °C.min⁻¹, 200 °C a poté 22 °C.min⁻¹, 280 °C (1 min). Podařilo se jim touto metodou identifikovat většinu z 20 izomerů nonylfenolů v technické směsi a zjistili, že 4-n-NP není ve směsi skoro přítomen.

1.5.2.2 Stanovení kapalinovou chromatografií

Vysokoučinná kapalinová chromatografie je velice rozšířená metoda pro stanovení neionických tenzidů.

Komerční produkty tenzidů nejsou čisté sloučeniny, ale směsi oligomerů s rozdílným

počtem oxyethylenových jednotek a rozdílnou hydrofóbní složkou. Účinně separovat vyšší oligomery je možné pomocí HPLC jak v systémech s normálními fázemi, tak v systémech s obrácenými fázemi.

V systémech s normálními fázemi se separace provádí na koloně plněné nemodifikovaným silikagelem, nebo chemicky vázané aminové fází, která dovoluje lepší separaci a.j. Jako mobilní fáze se nejčastěji používá nižší alkohol (methanol, ethanol, propanol) ve směsi s hexanem či heptanem. Jednotlivé oligomery eluují v pořadí podle vzrůstajícího počtu oxyethylenových jednotek.

Molekuly APnEO obsahují hydrofóbní alkylfenolovou část a hydrofilní polyoxyethylenový řetězec. Protože jednotlivé APnEO se liší délkou polyoxyethylenového řetězce, jsou nejlépe separovány na normálních fázích, podle jejich rozdílných interakcí polyoxyethylenového řetězce s polární stacionární fází. Retenční čas roste s počtem oxyethylenových skupin. Protože polarita APnEO oligomerů se dosti liší, proto je vyžadována gradientová eluce.

Dále je možné provádět separace¹⁰⁵ neionických tenzidů na bázi ethoxylovaných alkylfenolů pomocí mikro-HPLC. Metoda mikrokolonové chromatografie používá náplňové mikrokolony z kapilár z taveného křemene dlouhé 130-160 mm s vnitřním průměrem 0,32 mm, plněné oktadecyl- a aminopropylsilikagelovým sorbentem s chemicky vázanou stacionární fází. Přičemž autoři zjistili, že v chromatografii s obrácenými fázemi na koloně Biospher Si C18 se retence snižovala se zvyšujícím se počtem oxyethylenových jednotek a selektivita separace byla nedostatečná. Na aminopropyl- chemicky vázané fází separace byla úspěšná, retence se zvyšovala se zvyšujícím se počtem oxyethylenových jednotek.

Szymanowski a kol.¹⁰⁶ analyzovali APnEO zároveň s oxyethylenovanými alkoholy pomocí HPLC s normálními fázemi. K analýze použili chromatograf Hewlett Packard HP 1050 (Waldbronn, Germany) s detektory Varex IIA (Burtonville, USA), což je UV detektor nebo Knauer (Germany), což je detektor využívající rozptylu světla (ELSD). Separace probíhala na koloně (250 cm x 2,1 mm) s 5 μm Hypersilem APS. Mobilní fází byla směs hexan/voda/2-propanol a její průtok byl 0,3 ml.min⁻¹. Autoři studie zjistili, že detektor ELSD není vhodný pro analýzu APnEO s 1 - 3 oxyethylenovými skupinami, protože tyto těkavé látky se vypaří dříve než je detektor zaregistruje.

Ahel a Giger¹⁰⁷ analyzovali různé typy vzorků z životního prostředí. K 2 l vodného vzorku přidali 20 g NaCl a pH upravili na 7,0 – 7,5. Vzorek destilovali pod refluxem po dobu 3 hodin do extrakčního činidla cyklohexanu. Do extraktu bylo přidáno známé množství (3 - 20 ml) roztoku obsahujícího vnitřní standard 2,4,6-trimethylfenol (TMP) v cyklohexanu

(5,2 mg TMP.l⁻¹). Extrakt byl převeden do malých vialek (3 ml) s teflonovou zátkou opatřenou bezvodým síranem sodným. Roztok (10-50 µl) extraktu byl analyzován pomocí HPLC. HPLC systém byl složen ze dvou pump (Waters, Model 6000A), dávkovače (Waters, Model U6K) a Perkin-Elmer UV-VIS spektrofotometru (Model LC-50). Kolona (250 mm x 4,6 mm), plněná 10 mm Lichrosorb-NH₂ byla použita pro separace pomocí gradientové eluce. Mobilní fáze byla směs n-hexan a propanol (1:1). Pro systém s obrácenými fázemi byla použita 10 µm oktysilikagelová náplň kolony (RP-8, 250 mm x 3 mm), mobilní fáze methanol-voda (8:2) a průtok 0,5 ml.min⁻¹. Spektrofotometrický detektor byl nastaven na vlnovou délku 277 nm.

Tato dvojice autorů¹⁰⁸ popsala stanovení APnEO v syntetických detergentech i v odpadních vodách. Vodný vzorek byl extrahován metodou dle Wickbolda⁶¹. 1 l vzorku byl umístěn do extrakční aparatury, kam bylo přidáno pro zlepšení separace 40 g NaCl a pH bylo upraveno na hodnotu 7 - 8 přidávkem 5 g NaHCO₃. Vodný roztok byl převrstven 60 ml ethylacetátu. Pro stripování dusíkem byla nastavena rychlost 30 ml.min⁻¹ po dobu 5 min. Ethylacetátová vrstva byla odpuštěna do dělicí nálevky a extrakční aparatura naplněna čistým ethylacetátem. Extrakce byla opakována celkem třikrát. Po vysušení bezvodým síranem sodným byl extrakt odpařen na rotační odparce na objem 1-2 ml. Poté byl extrakt rozpuštěn v 1 ml dichlormethanu a přečištěn na skleněné kolonce se 4 g deaktivovaného Al₂O₃. Všechny APnEO byly eluovány 25 ml methanolu. Tato methanolvá frakce byla zakoncentrována v rotační odparce na malý objem (1-2 ml), přelita do 3 ml vialky opatřené uzávěrem a sušena pod proudem dusíku. Poté byl vzorek rozpuštěn v 500 µl směsi 2-propanolem/n-hexan (1:9). Přečištěný extrakt byl dávkován na HPLC s kolonami Lichrosorb-NH₂ (250 mm x 4,6 mm) a Spherisorb-NH₂ (120 mm x 3 mm). Byla použita gradientová eluce, průtok mobilní fáze n-hexan/2-propanol (9:1) byl 1,5 ml/min. Spektrofotometrický detektor (Perkin-Elmer UV-VIS spektrofotometr, Model LC-50) byl nastaven na vlnovou délku 277 nm. Pomocí HPLC analýzy se jim podařilo nalézt NPnEO s 1-18 oxyethylenovými jednotkami v odpadních vodách v koncentracích 0,8 - 2,3 mg.l⁻¹. Detekční limit pro jednotlivé oligomery byl 1 mg.l⁻¹ a výtěžnost APnEO 87 %. Ethoxylované alkylfenoly byly separovány během 40 min. Bylo zjištěno, že odpovídající oligomery se stejným počtem oxyethylenových jednotek, ale s rozdílným alkyl substituentem eluovaly ve stejném retenčním čase.

O stanovení NPnEO v odpadních vodách pomocí kapalinové chromatografie se pokusili Fytianos a kol.¹⁰⁹ Vzorky odpadní vody extrahovali buď podle Wickbolda⁸⁵ nebo s použitím XAD-2 kolon. 500 ml vzorku nechali protéct kolonkou, poté provedli eluci ethyletherem, směsí ethylether/methanol a methanolem. Eluát odpařili na 5 ml a analyzovali HPLC. Použili

dvě mobilní fáze, a to směsi n-hexan/THF a směs 2-propanol/voda. Využili gradientové eluce s UV detekcí při 277 nm. Výtěžnost těchto metod byla 85 – 96%.

Aranda a Burk¹¹⁰ analyzovali neionické tenzidy pomocí HPLC po mikroextrakci tuhou fází a s využitím on - line derivatizace. Použili automatický dávkovač Varian 9050, pumpu Varian 9010 a fluorescenční detektor Linear Instruments LC 304, kolonu ODS - Zorbax (250 mm x 4,6 mm) a mobilní fázi směs voda - acetonitril (30:70). Detekce probíhala při $\lambda_{\text{ex}} = 228 \text{ nm}$ a $\lambda_{\text{em}} = 366 \text{ nm}$. Derivatizačním činidlem byl 1-naftoylchlorid s 4- (dimethylamino)pyridinem jako katalyzátorem.

Gundersen¹¹¹ popsala HPLC analýzu NPnEO s 1-10 oxyethylenovými jednotkami s použitím „Graphite Carbon Column“. Separace byla uskutečněna na HPLC přístroji od firmy Waters (Milford, MA, USA) se skenovacím fluorometrem (277 nm-exitace, 300 nm-emise). První chromatografická kolona byla 10 cm HyperCarb plněná částicemi grafitického uhlíku o průměru 7 mm jako stacionární fází. Druhá kolona Aqguard (10 m x 5 mm x 2 mm) byla naplněná částicemi oktadecylsilikagelu ODS a byla propojena s první chromatografickou kolonou. Pro separaci NPnEO směsi (s 1-10 oxyethylenovými jednotkami) byla použita následující rozpouštědla (a): CH₃CN, (b): ledová kyselina octová. Průtok mobilní fáze byl nastaven na rychlost 1,0 ml.min⁻¹. Koncentrace používaných standardů dávkovaných na kolonu byla 1 mg.ml⁻¹ acetonitrilu. Dávkované množství bylo 0,1 ml až 0,2 ml. Kolona byla udržována na teplotě 30 °C. Podmínky gradientu jsou následující: NPEO (1-2): 0-15 min: (a)-(b) (50:50), 15-60 min: lineární gradient (a)-(b) (70:30), 60-100 min (a)-(b) (70:30). Pro NPEO(4) a NPEO (9-10): 0-15 min: (a)-(b) (70:30), 15-60 min: lineární gradient (a)-(b) (100:0), 60-140 min: udržováno (a)-(b) (100:0).

Voogt a kol.¹¹² se zabýval oxyethylovanými alkylfenoly v průmyslových a přírodních vzorcích. Sedimenty a kaly byly extrahovány v Soxhletově přístroji (16 hodin bazickým methanolem), extrakt byl zakoncentrován na objem 20 ml, neutralizován HCl a spolu se vzorky vody centrifugován pro odstranění tuhých částic. Všechny vzorky byly extrahovány a čištěny pomocí SPE, kdy byla použita kolona s C₁₈, kondicionována směsí voda/methanol (60:40). Následně byl aplikován vzorek a eluován 10 ml 100 % methanolu a odpařen do sucha, rozpuštěn a zaveden na kolonu. První frakce byla eluována 90 ml směsí dichlormethan - hexan (1:3) a dále nebyla analyzována. Pro analýzu byla použita frakce eluovaná 90 ml směsí dichlormethan - methanol (100:1), která byla odpařena do sucha a rozpuštěna v methanolu.

Fountoulakis a kol.¹¹³ stanovovali NPnEO v odpadních kalech pomocí HPLC a mikrovlnné extrakce. Vysušený vzorek extrahovali směsí hexan - aceton a také směsí dichlormethan -

methanol. V prvním případě byla teplota 100 °C a ve druhém 120 °C. Doba extrakce byla 17 minut. Pro porovnání provedli i extrakci pomocí ultrazvuku a Soxhletovu extrakci. Pro HPLC byla použita reverzní fáze a kolona XTerra® RP-18 (250 cm × 4.6 mm x 5 µm). Eluce byla gradientová a detekce fluorescenční při vlnové délce 222 nm, resp. 305 nm. Výtěžnosti byli 61,4 % pro NPnEO a 91,4 % pro NP. Detekční limity této metody byli zjištěny 1,82 µg.g⁻¹ pro NPnEO a 2,86 µg.g⁻¹ pro NP. Nalezené koncentrace se pohybovali mezi 12,8 – 233,5 mg.kg⁻¹ pro NPnEO a 3,6 – 93 mg.kg⁻¹ pro NP.

Ferguson a kol.¹¹⁴ analyzovali NP a NPnEO pomocí HPLC/MS-ESI. Vodní vzorky extrahovali methylchloridem. Extrakty odpařili a zbytek rozpustili v 1 ml směsi methanol - voda (1:1). K roztoku přidali vnitřní standard NP2EO a analyzovali na koloně Shodex (150 mm x 4,6 mm) s polyvinylalkoholem jako stacionární fází. HPLC systém byl Hewlett - Packard 1100 s pumpou G1312A a automatickým dávkovačem G1313A. Mobilní fází byla směs voda – methanol (1:1).

Takino, Daishima a Yamaguchi¹¹⁵ stanovovali oxyethylenovaný nonylfenol pomocí LC/MS - ESI (HP 1100 series) v říčních vzorcích. Jako standardy byly použity NP2EO až NP6EO. 1ml vzorku bylo přefiltrováno přes 0,2 µm nylonový filtr do polypropylénové vilky. K analýze bylo použito 100 µl vzorku. Separace byla provedena na koloně 150 x 2,1 mm plněné 5 µm Shodex Mspack GF-310 2D. Mobilní fáze byla směs acetonitril – octan amonný. Všechny oligomery byly detekovány za použití [M+NH₄]⁺ iontu. Detekční limity sahaly od 160 pg.ml⁻¹ (NP4EO) do 240 pg.ml⁻¹ (NP2EO), opakovatelnost a reprodukovatelnost hraničily od 4,2 % (NP2EO) do 6,2 % (NP6EO) a od 7,4% (NP5EO) do 9,8 % (NP6EO).

Cserhádi¹¹⁶ analyzoval oxyethylenované nonylfenoly na reversních fázích (RP-HPLC). Pro analýzu použil Liquopump Type 312 (Labor MIM, Budapest, Hungary) a Cecil CE-212 spektrofotometr (Cambridge, England), Valco 20 µl injektor (Houston, Texas, USA). Jako mobilní fáze byla použita směs methanol - voda (80:20). Průtok mobilní fáze byl 0,5 ml/min a vlnová délka detekce $\lambda = 235$ nm.

Cheng a Ding¹¹⁷ stanovovali NPnEO pomocí HPLC v detergentech určených pro domácnosti. Pro stanovení využili chromatograf s fluorescenční detekcí při vlnové délce 305 nm a kolonu XDB-C (15 cm x 0,46 cm x 0,5 µm). Eluci provedli směsí acetonitril/methanol/voda (4%/80%/16%). Toto metodou zjistili, že NPEO se nalézají ve 41 % z 90 detergentů používaných v domácnosti, a že jejich koncentrace se pohybuje od 0,2 do 21 %. Největší množství obsahovali prací přípravky.

Marcomini a Giger¹¹⁸ stanovovali OPnEO a NPnEO pomocí HPLC s obrácenými fázemi a použili gradientovou eluci. Provedli stanovení distribuce jednotlivých oligomerů (k dispozici měli NPEO oligomery průměrně s 11 oxyethylenovými jednotkami v rozsahu 1-18 EO skupin) a zjistili, že kvantitativní analýza vyžaduje separaci pomocí HPLC s normálními fázemi. 500 mg práškového vzorku detergentu bylo extrahováno v Soxhletově přístroji s 80 ml methanolu po dobu 30 minut. Extrakt byl odpařen na objem 20 ml a zředěn vodou obsahující 0,05 M dodecyl sulfátu sodného a acetonu na objem 50 ml tak, aby poměr jednotlivých složek byl 1:1:2 (methanol, voda, aceton). Na kolonu bylo dávkováno 20-80 μ l vzorku. Přídavek dodecyl sulfátu sodného měl zamezit adsorpci analytu v chromatografickém systému. Použili kolonu RP8 (100mm x 4 mm x 0,01mm) a předkolona (30mm x 4 mm). Nejprve byla použita mobilní fáze směs A (5 % 2-propanol, 40 % voda, 55 % acetonitril/H₂O + 0,02 M NaClO₄) po dobu 6,5 min a následně po dobu 10 min směs B (5 % 2-propanol, 15 % acetonitril, 80 % acetonitril/voda (45/55) + 0,02 M NaClO₄), průtok 1,2 ml.min⁻¹. Pro HPLC s normálními fázemi bylo odebráno 200 - 500 ml vzorku obsahující vnitřní standardy v množství 0,1 mg nonylfenolu, 0,7 mg NP1EO, a 0,02 mg NP2EO ve směsi methanol - voda (1:1). K tomuto roztoku bylo přidáno 20 ml redestilované vody s 500 mg NaCl a 1 ml n-hexanu. Roztok byl po centrifugaci dávkován v množství 20 - 50 μ l na HPLC kolonu. K HPLC analýze s normálními fázemi byla použita kolona APS (100 mm x 4 mm x 3mm). Byla použita isokratická eluce směsí n-hexan/2-propanol (98,5/1,5) o průtoku 1,5ml/min. Jako detektor byl použit UV fluorescenční spektrofotometr, přičemž vlnová délka excitace byla 225 nebo 230 nm. Použita byla vlnová délka 295 nm pro obrácené fáze a pro normální fáze 277 nm. Výťažnost extrakce se pohybovala mezi 85 – 100 %.

Kibbey a kol.¹¹⁹ separovali oligomery NPnEO (n = 3 až 50) v komerčním tenzidu Tergitol. Kombinovali předkolonu s ODS (7,5 mm délka) a 3 μ m silikagelovou kolonu (délka 15 cm). Využili gradientu s acetonitrilem a vodou jako mobilní fází a detektoru UV a ELS.

Lee a kol.¹²⁰ stanovovali NPnEO kapalinovou chromatografií po jejich extrakci nadkritickou kapalinou za teploty 80 °C a tlaku 51.10⁵ Pa. Pro analýzu vzorků byla použita sestava Hewlett-Packard 1050, HP 1050 autosampler, HP 1046 A programovatelný fluorescenční detektor. Kolona 100 mm x 2,1 mm byla plněna Hypersilem (5 μ m, -NH₂). Předkolona 20 mm x 2,1 mm byla plněna ODS (5 μ m). Pro separaci NPnEO směsi (s 1-17 EO jednotkami) byla použita následující rozpouštědla (a): n-hexan/2-propyl alkohol (98:2), (b): 2-propyl alkohol/voda (9:1). Průtok mobilní fáze byl naprogramován: 3 min směs o složení 97 % (a) a 3 % (b), 43 % (a) a 57 % (b) dalších 22 min. Průtok kolonou a teplota na

koloně byla udržována na hodnotě 40 °C a 0,3 ml.min⁻¹. Dávkováno bylo 10 µl vzorku a spektrofotometrický detektor byl nastaven na vlnovou délku 230 nm (excitace) a 300 nm (emise).

Tsuda a kol.¹²¹ stanovovali pomocí HPLC 4-NP, NP1EO, NP2EO a další APnEO v rybách a korýších. Využili přístroje LC-10ADGH-I (Shimadzu, Japonsko) s fluorescenční detekcí a kolonou Inertsil PH (150 cm × 4,6 µm). Eluce byla gradientová a to se směsí methanol/voda. Výtěžnosti použité extrakce se pohybovaly od 81,1 – 84,3 % pro NP, 83,5 – 84,3 % pro NP1EO a 90,5 – 96,2 % pro NP2EO. Detekční limit byl 2 ng.g⁻¹ pro NP, NP1EO i NP2EO.

Scarlett a kol.¹²² separovali také oligomery NPnEO na koloně o rozměrech 100 mm x 8 mm a s předkolonou Waters Guard-Pak.. Použili pumpu LDC Constametric III, automatický dávkovač Waters WISP 710B a spektrometrický detektor LDC Spectromonitor III. Integrátorem byl Hewlett - Packard 3388A. Celkové zastoupení NPnEO analyzovali na koloně Nova Pak C18.

Kósa a kol.¹²³ analyzovali oxyethylenované nonylfenoly obsahující 3, 4 a 5 oxyethylenových jednotek. K analýze použili HPLC s UV a hmotnostní detekcí. Chromatografická sestava pro HPLC-UV se skládala z pumpy (Merc-Hitachi L-6000A, Tokyo, Japan), dávkovacího zařízení Rheodyne injector 7125 (20 ml), kolony (250 mm x 4 mm) plněnou Al₂O₃ velikosti zrn 5 µm. Jako mobilní fáze byla použita směs ethylacetát/n-hexan (70:30), o průtoku 1 ml/min. UV detektor (Merc-Hitachi L-4000A) byl nastaven na vlnovou délku $\lambda = 254$ nm. Pro HPLC-MS byla použita chemická ionizace za atmosférického tlaku APCI pracující v pozitivním módu. Hmotnostní spektrometr (Perkin-Elmer SCIEX API 165), dávkovací zařízení Rheodyne injector 7125 (20 ml).

Houde a kol.¹²⁴ využili kombinaci HPLC/MS pro stanovení NPnEO a NPnEC v povrchových vodách. Kolonu použili Zorbax C8 (150 cm × 4,6 µm x 5 m) a mobilní fáze byla směs methanol/kyselina mravenčí/amonium acetát. Hmotnostní detektor využíval kvadrupól a elektrosprej. Tato metoda měla detekční limit od 0,01 do 0,05 g.l⁻¹ pro NP(1-17)EO a 0,01 g.l⁻¹ pro NP(1-2)EC. Byla použita extrakce na GBC kartridžích a výtěžnosti této extrakce se pohybovali v rozmezí od 78 do 107 %.

1.6 Extrakce magnetickou tuhou fází

1.6.1 Princip MSPE

Principem extrakce magnetickou tuhou fází (MSPE) je adsorpce cílové sloučeniny nebo

buňky na magnetické částice a následné odstranění vytvořeného komplexu pomocí vnějšího magnetického pole¹³¹. Rozlišujeme separaci pozitivní, v jejímž případě jsou magneticky separovány a izolovány přímo žádané sloučeniny nebo buňky, a negativní, kdy se naopak ze systému odstraňují nežádoucí složky.

Pro separace v magnetickém poli je potřebné nenáročné základní vybavení, především vhodně zvolený magnetický sorbent nebo nosič s imobilizovanými afinitními ligandy a vhodný magnetický separátor.

Magnetické separace mohou ve vybraných případech urychlit nebo usnadnit některé běžně používané separační postupy a metody. Obecně je využití selektivní magnetické separace výhodné při práci v heterogenních suspenzních systémech. V současné době je magnetická separace využívána především v mikrobiologii, buněčné biologii, molekulární biologii, lékařství, biochemii a v ekologii.

Magnetické vlastnosti získává látka působením magnetického pole. Má-li však mít magnetické pole na hmotu vliv, pak musí být příčiny tohoto jevu obsaženy již v samotné hmotě.

Hmota se skládá z elementárních částic s elektrickým nábojem. Tyto náboje, vázané na určité hmotné částice (elektrony, jádra), jsou v neustálém periodickém pohybu po uzavřených drahách. Představují vlastně elementární proudy. Takové útvary podle zákonů elektrodynamiky musí budit ve svém okolí magnetické pole¹²⁵.

Dle chování látek v magnetickém poli je rozdělujeme na ferromagnetické, paramagnetické a diamagnetické. Ferromagnetické látky jako např. železo, nikl a kobalt jsou známé svým charakterickým afinitním chováním k patřičnému pólu zdroje magnetického pole. Látky paramagnetické jako např. hliník, platina a kyslík magnetické pole nepatrně zesilují. Zatímco látky diamagnetické jako např. měď, rtuť či inertní plyny magnetické pole nepatrně zeslabují. Síla magnetického pole je charakterizována fyzikální veličinou H , která se nazývá: „intenzita magnetického pole“, a vyjadřuje se jednotkou $A \cdot m^{-1}$. Lze-li magnetické pole popsat vodorovnými, rovnoměrně rozvrstvenými siločarami, pak toto pole považujeme za homogenní. Vložíme-li do homogenního pole nějakou látku pak se v ní vytvoří vnitřní magnetické pole o intenzitě M (tzv. magnetizace). Intenzita tohoto vnitřního pole M pak může mít směr souhlasný s intenzitou pole vnějšího, pak říkáme, že látka je paramagnetická. Je-li směr intenzity M vnitřního pole opačný než směr intenzity pole vnějšího, pak říkáme, že látka je diamagnetická. Výsledná intenzita je pak vektorovým součtem intenzity vnějšího magnetického pole H a magnetizace M . Důležitá veličina charakterizující magnetické vlastnosti látek, potažmo materiálů je relativní permeabilita μ_r , která je definována jako poměr

výsledné intenzity H_v a intenzity vnějšího pole H_{OD} . Další důležitá veličina je magnetická susceptibilita χ neboli magnetická citlivost, která je definována jako poměr magnetizace M a intenzity vnějšího magnetického pole. Proto je magnetická susceptibilita bezrozměrnou veličinou. Z magnetické susceptibility je pak odvozena specifická magnetická susceptibilita ψ , která je vlastně jen magnetická susceptibilita χ podělená hustotou materiálu.

Magnetizace materiálů je závislá na hodnotě magnetické susceptibility a intenzitě vnějšího magnetického pole. Magnetické charakteristiky materiálů se mohou měnit v závislosti na tlaku, teplotě, na fyzikálním a chemickém okolí a předchozím zpracování. Toto je důležité mít na paměti zejména při potřebě magneticky separovat dva materiály s blízkými magnetickými susceptibilitami.

Magnetická separace stojí na bilanci magnetické síly vůči silám proti ní působícím, např. síla gravitační a síla odporu prostředí. Pro separaci látek z blízkou susceptibilitou se obvykle využívá faktu, že magnetická síla je úměrná třetí mocnině průměru částice zatímco síla hydrodynamického odporu je úměrná pouze mocnině první. Proto lze separaci v kapalném prostředí ovlivnit velikostí separovaných částic, nebo hustotou prostředí¹²⁶.

1.6.2 Magnetické sorbenty

Nejpoužívanějšími magnetickými materiály pro přípravu magnetických nosičů a sorbentů jsou práškové oxidy železa jako magnetit (oxid železnato – železitý, Fe_3O_4) a maghemit (gama – oxid železitý, gama – Fe_2O_3) poté oxid chromičitý CrO_2 , práškové železo, ferity a nikl. Kromě magnetických částic lze pro některé aplikace využít i tzv. magnetické kapaliny (ferrofluids nebo magnetic fluids), což jsou suspenze velmi jemných tuhých magnetických částic (průměr cca 2-20nm) ve vhodné nemagnetické kapalině.

Magnetické sorbenty můžeme rozdělit do třech skupin¹²⁷:

1. Magnetické sorbenty, které mohou být použité jako individuální tuhá fáze schopná na svůj povrch vázat kontaminanty. Stupeň odstraňování závisí především na velikosti částic.
2. Magnetické sorbenty ve formě speciálních vícesložkových materiálů složených z magnetických částic v kombinaci s jinými chemickými látkami, které mají zvýšit sorpční schopnost.
3. Magnetické sorbenty ve formě hydroxidů a oxidů železa mohou být vysrážené „in situ“ ve vodě znečištěné těžkými kovy a se zvýšeným obsahem železa. Pro vysrážení

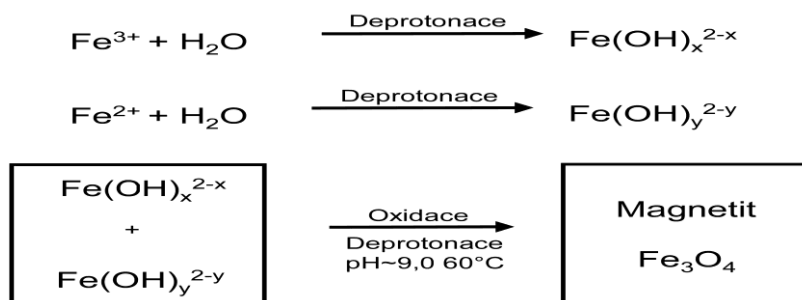
Fe iontů je důležitý jejich oxidační stav, resp. poměr $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$. Fe - sraženina váže do své struktury ionty těžkých kovů a může být magneticky odseparována. Tento postup může být využit na úpravu kyselých odpadních vod po zpracování Fe – sulfidů. Vlivem základních parametrů v procesu srážení na výslednou kvalitu feritů a porovnáváním chemické stálosti feritů se zabývali Mucha a Hencel¹²⁸. Princip přípravy feritů je následující: za přítomnosti iontů Fe^{2+} s dvojmocnými kovovými ionty M (M = Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn) se pomocí NaOH vytvoří sraženina hydroxidů. Za specifických podmínek se část dvojmocného železa oxiduje na trojmocné. Vzniklé komplexní sloučeniny mají spirálovou strukturu a magnetické vlastnosti.

Johnson¹²⁹ studoval srážení kovových iontů v odpadních vodách z dolu na těžbu olovené rudy. Srážení probíhalo za teploty okolo cca 10°C, při současné tvorbě magnetických precipitátů feritických typů (např. magnetitu). Jako srážecí činidlo bylo použito $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a Na_2CO_3 , doba srážení feritů se pohybovala v rozmezí 24 – 48 hodin.

Gupta a kol.¹³⁰ ve svém článku o syntéze a povrchové úpravě nanočástic oxidů železa pro biomedicínské využití popsali i jejich přípravu. Dlouhou dobu bylo vědeckou a technologickou výzvou syntetizovat magnetické nanočástice požadované velikosti a tvaru. Fyzikální metody zahrnují složité procedury, a to kvůli nemožnosti kontrolovat velikost částic v rozmezí nanometrů. Mokré chemické postupy jsou jednodušší a účinnější, umožňují kontrolu velikosti, složení a někdy i tvaru nanočástice. Oxidy železa (buď Fe_3O_4 nebo $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) mohou být syntetizovány vysrážením vodného roztoku Fe^{2+} a Fe^{3+} přidáním báze. Kontrola velikosti, tvaru a složení nanočástic závisí na typu použité soli, např. chloridu, síranu či dusičnanu, poměru Fe^{2+} a Fe^{3+} , pH a iontové síle média.

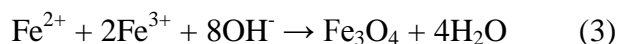
Obecně je magnetit připravován přidáním báze do vodné směsi Fe^{2+} a Fe^{3+} chloridů v molárním poměru 1:2. Vysrážený magnetit má černou barvu.

Reakční mechanismus vzniku částic magnetitu znázorňuje následující obrázek:

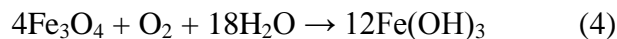


Obr.9: Schématické znázornění reakčního mechanismu vzniku částic magnetitu

Souhrnná reakce může být zapsána následujícím reakčním schématem:



V souladu s termodynamikou této reakce by se dalo očekávat kompletní vysrážení Fe_3O_4 mezi pH 9 – 14, je-li zachován molární poměr $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}$ 1:2 v prostředí bez kyslíku, jinak může dojít k oxidaci:



To by mohlo zásadně ovlivnit fyzikální a chemické vlastnosti magnetických částic, proto je nutné zabránit oxidaci vzduchem a seskupování částic. Fe_3O_4 nanočástice produkované reakcí (3) jsou tedy během procesu srážení obvykle pokryty organickými či anorganickými molekulami.

Pro kontrolu reakční kinetiky, která je silně spojená s rychlostí oxidace, musí být syntéza částic provedena v prostředí bez kyslíku zajištěným průchodem dusíku. Probublání roztoku dusíkem chrání nejen před procesem oxidace, ale také snižuje velikost částic v porovnání s metodou bez odstranění kyslíku.

Laboratorní způsoby přípravy magnetických sorbentů a nosičů jsou následující¹³¹:

I. způsob - Povrchové modifikace magnetovce nebo jiného magnetického materiálu, ve většině případů silylací, kdy se silylačním činidlem nanese na povrch magnetického materiálu potřebná funkční skupina.

To se provádí obvykle třemi způsoby:

a) Silylace v organickém rozpouštědle

Magnetický materiál se vnese do roztoku silylačního činidla rozpuštěného v např. toluenu. Suspenze se pak zahřívá pod zpětným chladičem až 24 hodin. Pak se materiál dekantuje toluenem a omyje acetonem.

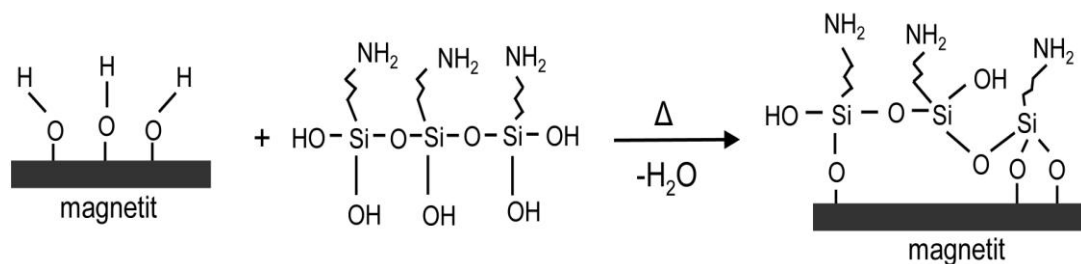
b) Postup odpařovací

Do roztoku silylačního činidla v acetonu se nejprve suspenduje magnetický materiál. Následně se rozpouštědlo (aceton) odpaří na vakuové rotační odparce. Nakonec se materiál promyje acetonem a je připraven k použití.

c) Silylace ve vodném prostředí

Suspenze silylovaného materiálu se zahřívá po dobu 4 hod při 75°C. Kapalná fáze zahřívání suspenze je vodný roztok silylačního činidla s pH upraveným na cca 4. Po uplynutí

doby zahřívání se materiál promyje vodou a tím je jeho příprava u konce.



Obr.10: Zjednodušené schéma silylace magnetického sorbentu

Yamaura a kol.¹³² připravili silylací magnetické nanočástice s (3-aminopropyl)triethoxysilanem (APTES), $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$. Magnetické částice byly vysráženy přidáním NaOH do míchaného roztoku chloridu železnatého a chloridu železitého až do dosažení pH 11 při pokojové teplotě. Suspenze byla opakovaně promyta destilovanou vodou. Poté byly částice magneticky separovány a nejméně třikrát rozptýleny ve vodném roztoku, dokud pH nekleslo na 7. V dalším kroku byl povrch těchto částic silylován pomocí APTES. Postup se sestával ze zahřívání magnetické suspenze s glycerolem a roztokem APTES na vodní lázni po dobu 3 hod a v další fázi, po magnetické separaci, za pečlivého promytí silylovaných magnetických částic destilovanou vodou a sušení do vytvoření jemného prášku.

Šafaříková a kol.¹³³ uvádějí ve svém článku o extrakci magnetickou tuhou fází postup přípravy dvou magnetických adsorbentů – modrého magnetitu a magnetického uhlí.

Modrý magnetit je označení pro silylovaný magnetit, na který je imobilizován ftalocyanin mědi. Tento specifický magnetický adsorbent je využíván pro zakoncentrování organických látek s planárním uspořádáním (např. polyaromatické uhlovodíky a jejich deriváty nebo trifenylmethanová barviva). Magnetické chování adsorbentu umožňuje jeho odstranění nejen z roztoků, ale i suspenzí. Tato vlastnost je velice užitečná, protože k sorpci organických látek může dojít přímo v neupravených vzorcích, například z odpadních vod nebo půdních suspenzí¹³⁴.

Modrý magnetit byl připraven následujícím postupem: 10 g oxidu železnato-železitého bylo suspendováno 5 % kyselinou dusičnou. Poté byla suspenze v uzavřené nádobě vařena při 100 °C po dobu jedné hodiny. Po promytí destilovanou vodou bylo k sedimentovanému magnetitu přidáno 40 ml 10 % vodného roztoku 3-aminopropyltriethoxysilanu (pH bylo upraveno na hodnotu cca 4,0 pomocí HCl). Suspenze byla za stálého míchání zahřívána na vodní lázni (80 °C) po dobu 4 hodin. Silylovaný magnetit byl promyt vodou, suspendován do

200 ml vody a smíchán se 4 g barviva C.I. Reactive Blue 21 a 12 g chloridu sodného. Suspenze byla zahřátá na 70 °C a po 15 minutách bylo přidáno 10 g uhličitanu vápenatého. Tato suspenze byla po dobu 4 hodin a při 70 °C neustále míchána. Po uplynutí této doby byla směs ponechána přes noc při laboratorní teplotě. Částičky modrého magnetitu byly poté promyty vodou a zbylá barva byla odstraněna pomocí extrakce methanolem v Soxhletově extraktoru. Extrahované částičky byly opakovaně promyty směsí methanol – koncentrovaný NH₄OH (50/1; v/v) a dimethylsulfoxidem. Promytý modrý magnetit byl uchován ve vodě, jejíž teplota byla 4 °C. Hmotnost 1 ml usazeného modrého magnetitu po vysušení byla 322 mg. Obsah ftalocyaninu mědi byl stanoven elementární analýzou po mineralizaci modrého magnetitu koncentrovanou kyselinou dusičnou pomocí ICP spektrometru PU 7450 (Pye – Unicam, England). Obsah činil 76 μmol na gram suchého sorbentu.

Magnetické uhlí bylo stejnými autory připravováno následujícím způsobem: heptahydrát sulfidu železnatého (10 mmol; 2,78 g) byl rozpuštěn ve 100 ml vody a po rozpuštění bylo přidáno 0,5 g aktivního uhlí. Suspenze byla míchána na mixéru vortex a během 5 minut bylo po kapkách přidáno 10 ml 10 % NaOH k urychlení hydratování oxidů železa. Suspenze byla potom míchána a zahřívána na 100 °C po dobu 1 hodiny. Po ochlazení byl výsledný magnetický adsorbent opakovaně promyt vodou a uchováván ve vodní suspenzi při 4 °C. Hmotnost 1 ml usazeného magnetického uhlí po vysušení byla 75,5 mg. Magnetické uhlí je často využíváno k odstraňování různých organických sloučenin. Tento sorbent je vysoce inertní, teplotně stabilní a může být používán v širokém rozmezí pH¹³⁵.

II. způsob - Jemné magnetické částice je možno zabudovat do struktury biopolymerů (nejčastěji se používají polysacharidy a bílkoviny jako např. celulóza, chitosan, chitin, dextran apod.), nebo syntetických polymerů např. polyakrylamid, nylon, polystyren, polyethylenglykol, poly(oxy-2,6-dimethyl-1,4-fenylen) – PODMP, nebo je možné polymerní řetězce imobilizovat na povrch magnetických částic. Další možnost je zabudování polymerních řetězců do struktury magnetických oxidů železa v průběhu srážení železnatých a železitých iontů v alkalickém prostředí. Nakonec lze použít i postup promývání porézních materiálů magnetickou kapalinou, kdy dojde k zabudování a adsorpci velmi jemných částic magnetických oxidů železa do pórů sorbentu. Poslední metodou tohoto druhu je tzv. „*ferrite plating*“¹³⁶.

Magnetický PODMP byl připraven smícháním PODMP s ε-kaprolaktamem a práškovým magnetitem ve skleněné kádince. Směs byla zahřívána a míchána. Po dokonalém rozpuštění

PODMP v roztaveném ϵ -kaprolaktamu byla směs chlazená mícháním. Tuhý černý materiál byl rozemlet na malé částice. Tyto částice byly dále promyty methanolem v Soxhletově extraktoru a následovalo jejich postupné přenesení z methanolu do vody¹³⁷.

Šafaříková a kol.¹³⁸ připravili magnetický alginát pro čištění α -amylas. Roztok alginátu sodného byl přidán k dodecylsulfátu sodnému (SDS) ve zkumavce. Po řádném promíchání a rozpuštění SDS byl přidán ferrofluid a obsah byl dobře promíchán. Po přidání 1-pentanolu byl celý obsah míchán na mixéru vortex cca 5 min při maximální rychlosti. Potom byl obsah této zkumavky rychle přelit do jiné, obsahující roztok chloridu vápenatého a míchání pokračovalo další 2 min. Po 15 min stání byly částice separovány pomocí vhodného magnetického separátoru a opakovaně promyty 5 % roztokem chloridu vápenatého až do vymytí 1-pentanolu. Na závěr byla suspenze zfiltrována.

Magnetický zesítěný chitosan byl připraven následující cestou: k chitosanu rozpuštěnému v 5% kyselině octové byl přidán práškový magnetit a tato směs byla důkladně promíchána. Dále byl do směsi přidáván 1,5 M NaOH do vytvoření gelu. Černý gel byl nakrájen na malé kousky a přes noc ponechán při laboratorní teplotě. Poté byl tento černý chitosanový gel homogenizován v mixéru na jemné částice. Magnetické chitosanové částice byly řádně promyty vodou, aby se vymyl přítomný NaOH. Do této suspenze byl přidán fosfátový pufr a glutaraldehyd. Tato suspenze byla za neustálého míchání inkubována při okolní teplotě 18 hod. Zesítěný magnetický chitosan byl důkladně promyt vodou. Volné aldehydické skupiny byly blokovány ethanolaminem a magnetické částice byly nakonec promyty vodou.

Magnetický acetylovaný chitosan se připraví z vodou promytých jemných částic chitosanu připravených postupem popsaným výše. Magnetické částice (připravené z 1 g chitosanu) byly promyty 70 % methanolem. Částice byly poté suspendovány v 70 % methanolu a byl přidán acetanhydrid k převedení chitosanu na acetylovaný produkt. Suspenze byla míchána při pokojové teplotě po dobu 18 – 20 hod. Magnetický N-acetylovaný chitosan byl řádně promyt vodou a skladován při teplotě 4 °C.

Magnetický chitin lze připravit podobně. Chitin byl suspendován v chlazené HCl. Suspenze byla uchovávána při 5 °C za občasného míchání 44 hod. Supernatant, obsahující rozpuštěný chitin, byl nalit do vodní suspenze obsahující jemné magnetické částice za intenzivního míchání. Vodou pečlivě promytý připravený sorbent byl skladován při 4 °C¹³⁸.

Jinou možností je magnetická modifikace buněk *Saccharomyces cerevisiae subsp. Uvarum*. Buňky byly modifikovány za použití magnetické kapaliny stabilizované HCl. Do připravené suspenze buněk byl přidán ferrofluid. Dále byla suspenze míchána a inkubována 1 hod při

pokožkové teplotě. Většina buněk tak byla magneticky modifikována. Nemagnetické buňky a zbylý ferrofluid byly odstraněny opakovanou statickou magnetickou separací s promýváním¹³⁹.

Pro separaci vybraných biologicky aktivních látek a xenobiotik lze využít ferrofluidem modifikované rostlinné materiály jako adsorbenty. Smrkové piliny byly suspendovány v methanolu. Následně byl přidán ferrofluid. Během míchání došlo k téměř kompletní adsorpci ferrofluidu na piliny. Magnetické piliny byly poté opakovaně promyty vodou⁸⁴.

III. způsob - K zabudování jemných magnetických částic může dojít i do struktury anorganických materiálů, jako je např. silikagel nebo porézní sklo.

Pro magnetické separace je k dispozici řada komerčně dostupných magnetických částic. Největšími výrobci jsou firmy Dynal (Norsko), Advanced Magnetics (USA), Bangs Laboratories (USA), CPG (USA) a Miltenyi Biotec (Německo).

Firma Dynal nabízí nosiče na bázi polystyrenu pod názvem Dynabeads ve dvou velikostech částic (průměr 2,8 μm a 4,5 μm) v neaktivované formě, aktivované tosylací a s některými imobilizovanými ligandy. Advanced Magnetics dodává tři typy sytilovaných magnetocvů pod názvem Biomag, dále pak magnetickou agarosu. Firma CPG vyrábí magnetické částice na bázi porézního borosilikátového skla. Miltenyi Biotec se specializuje na výrobu velmi jemných superparamagnetických částic s imobilizovanými protilátkami nebo streptavidinem pro vysokogradientové magnetické separace.

Existuje také řada komerčně dostupných souprav pro stanovení biologicky aktivních látek, buněk nebo kontaminantů životního prostředí využívající principy magnetické separace.

1.6.3 Magnetické separátory

Magnetické separátory obvykle využívají silné permanentní magnety zřídka pak elektromagnety. Materiály pro permanentní magnety jsou velmi různé dle požadované síly magnetu při určitých rozměrech. Obecně lze říci, že obyčejné slabší magnety jsou vyráběné z materiálů na bázi směsných oxidů železa a pro silnější magnety se používají speciální slitiny kovů a to zejména Re, Nb a další. Firmy jako Dynal nebo Advanced Magnetics nabízejí laboratorní separátory pro zkumavky, mikrozukavky, mikrotitrační destičky či baňky.

Pro izolaci jemných koloidních magnetických částic je nejlépe použít vysokogradientový separátor (HGMS). V laboratorním uspořádání je mezi póly silného permanentního magnetu umístěna kolonka vyplněná feromagnetickou maticí (ocelovou vlnou). V těsné blízkosti ocelových vláken dochází ke vzniku velmi silných lokálních gradientů magnetického pole,

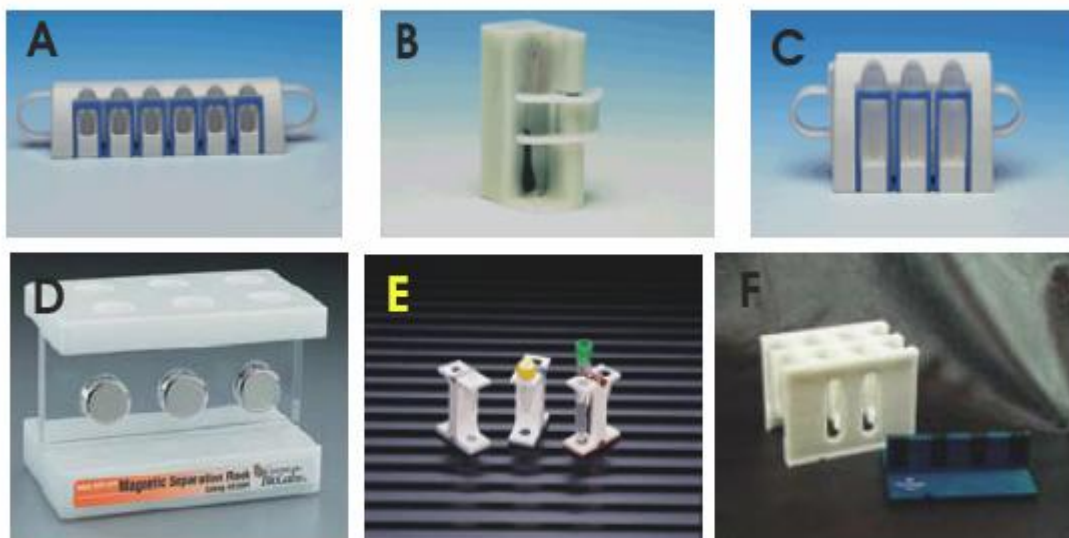
které umožňují zachycení i velmi malých feromagnetických a paramagnetických částic při průtoku suspenze kolonou. Zachycené magnetické částice se z kolony vymyjí po jejím vyjmutí z magnetického pole¹³¹. Laboratorní separátory tohoto typu dodává např. firma Miltenyi Biotec (Německo).

V případech, kde je zapotřebí kromě vysokého gradientu ještě regulace intenzity magnetického pole, je nejvýhodnější použití elektromagnetů na bázi supravodičů. Možnosti jejich využití ukazuje ve své práci Maxwell¹⁴¹.

Dalšími přístroji pro zjištění přítomnosti magnetických či zmagnetizovaných částic je Ferograf⁷⁶ nebo supravodivý kvantový interferenční magnetometr („superconducting quantum interference device magnetometer“ - (SQUID))¹⁴².

Pro magnetické separace ve velkém měřítku (např. pro magnetické procesy při čištění odpadních vod) se nejčastěji využívají bubnové separátory, které mají podobnou konstrukci jako zařízení používaná k odstraňování hlušiny od magnetické železné rudy, nebo vysokogradientové magnetické separátory¹³¹.

Magnetické separátory pro laboratorní aplikace jsou obvykle tvořeny velmi silnými permanentními magnety na bázi kovů vzácných zemin. Šafařík¹⁴³ použil k sestavení magnetického separátoru 9 permanentních magnetů (49 x 23 x 12 mm) seřazených do 3 řad a 3 sloupců (konečný rozměr potom byl 69 x 147 mm). Tato destička byla umístěna do papírové pravoúhlé schránky o rozměrech 90 x 167 mm, výška stěny byla 20 mm. Volný prostor byl vyplněn roztokem samotuhnoucí pryskyřice. Po ztuhnutí pryskyřice byla papírová schránka odstraněna. Tento jednoduchý magnetický separátor může být použit pro odstranění magnetických nosičů a sorbentů z 500 – 1000 ml suspenze



Obr.11: Ukázka komerčně dodávaných magnetických separátorů

A: Dynal MPC –S (Dynal, Norsko); B: Dynal MPC (Dynal, Norsko);); C: Dynal MPC (Dynal, Norsko); D: magnetický separátor pro 6 zkumavek typu Eppendorf (New England BioLabs, USA); E: MagneSphere Technology Magnetic Separation Stand (Promega, USA); F: MagnaBot (Promega, USA)

Další technikou sloužící pro kontinuální separaci magneticky značených buněk nebo buněčných komponent je tzv. “free – flow magnetophoresis”¹⁴³. Jedná se o postup využívající modifikované zařízení pro kontinuální elektroforézu, přičemž původní elektrody byly nahrazeny solenoidy. Magneticky značené buňky interagují s magnetickými silami, kdežto nemagnetický materiál prochází polem bez interakce. Magnetické pole může být ovlivňováno a tím dosaženo průchodu různých částic. Nakonec jsou odebírány různé frakce. Touto metodou bylo dosaženo čistoty materiálů až 99 % při rychlosti průchodu 5×10^8 částic za hod.

1.6.4 Hlavní využití MSPE v poslední době

Magnetické sorbenty, nosiče nebo modifikátory je možno využít pro izolaci nebo magnetickou modifikaci biologicky aktivních látek, buněk, subcelulárních komponent, kontaminantů životního prostředí apod.¹³¹. Nyní zde budou dále uvedeny některé příklady využití ve třech oborech, a to: I. v biologii a medicíně, II. v biochemii a biotechnologiích a III. v ekologii.

I. využití v mikrobiologii, buněčné biologii a medicíně

Pro biomedicínské využití se preferují nanočástice, které vykazují magnetické vlastnosti již při pokojové teplotě. Navíc aplikace v biologii a lékařské diagnostice vyžaduje, aby magnetické nanočástice byly stabilní ve vodném prostředí při neutrálním pH a ve fyziologickém roztoku.

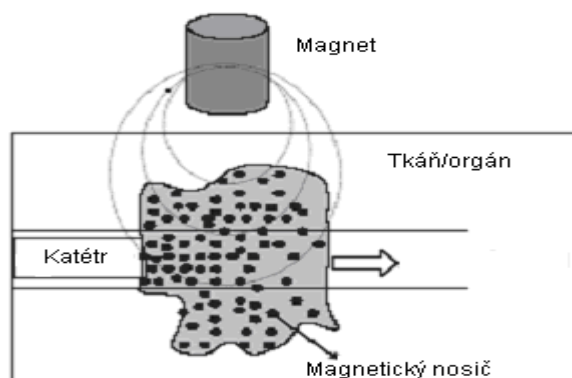
Magnetické nanočástice se mohou v biomedicíně používat *in vivo* nebo *in vitro*. Pro aplikace *in vivo* musí být magnetická nanočástice obalena biokompaktním polymerem během syntetickém procesu nebo po něm kvůli zabránění shlukování a vzniku struktur s jiným uspořádáním a jejich možné biodegradaci při expozici s biologickým systémem. Polymer musí také léku dovolovat navázat se na částici kovalentní vazbou, adsorpcí nebo chemisorpcí¹⁴⁴.

In vivo aplikace:

- 1) Značení postižených tkání v živém organismu a jejich následná extrakce z organismu

pomocí vnějšího magnetického pole (tj. magnetická separace zdravých a nádorových tkání).

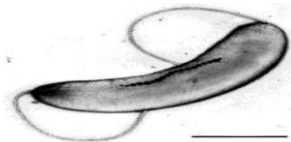
2) Magneticky kontrolovaný přenos léčivých látek, navázaných na povrchu nanočástic, do míst zasažených nádorem, kde je následně nesená léčivá látka uvolněna.



Obr.12: Schématické znázornění magneticky řízeného přenosu léčiv

Mnohé mikroorganismy jsou schopny syntetizovat ve svých buňkách krystalky magnetitu (Fe_3O_4) a využívají je pro orientaci v magnetických polích. Patří mezi ně i mikrob *Magnetospirillum magnetotacticum* znázorněný na obr. 14. Každý krystalek magnetitu má tato bakterie zabalený do membrány, a tvoří tak organelu označovanou jako magnetosom. Bakterie z krystalů vytváří řetízky, které fungují podobně jako strelka kompasu. Bakterie si s jejich pomocí hledá cestu do hlubších vod, kde nachází příhodnější podmínky pro život.

Kdyby se podařilo izolovat magnetosomy z bakterií v dostatečném množství, mohly by posloužit jako velmi svérázné nosiče léků. Farmakologické přípravky by se vázaly na povrchovou membránu magnetosomu a magnetitové jádro by posloužilo k zavedení částic na určené místo v těle magnetickým polem. Tento způsob dopravy léčiv by připadal do úvahy především u velmi drahých nebo vysoce toxických preparátů. V úvahu připadá především léčba nádorů toxickými cytostatiky. Vyloučeno není jejich využití ani při léčbě jiných chorob, např. arterosklerózy.



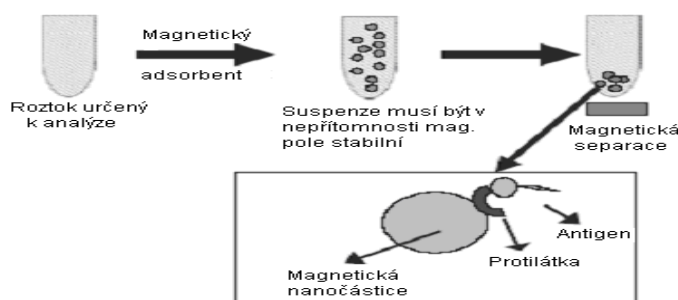
Obr.13: *Magnetospirillum magnetotacticum* - délka úsečky je jeden mikrometr. Magnetické částice seřazené do linie jsou v nitru bakterie jasně patrné.

3) Hypertermie při léčení rakoviny. Magnetické částice jsou zavedeny do krve a magnetickým polem jsou navedeny do oblasti, která je postižena rakovinou. Tyto částice jsou posléze vystaveny působení střídavého vnějšího magnetického pole, které zapříčiňuje jejich neustálou remagnetizaci, při níž se uvolňuje teplo v důsledku hysterezních ztrát. Teplota okolí

nanočástice se tak zvětšuje, což vede k nekróze rakovinových buněk při určité teplotě (obvykle 42 °C).

In vitro aplikace:

Aplikace in vitro slouží především v diagnostice. Magnetický adsorbent se přidá do roztoku nebo suspenze obsahující cílovou složku. Ta se naadsorbuje na magnetickou částici. Adsorbent s naadsorbovanou složkou je ze suspenze odstraněn pomocí vhodného magnetického separátoru. Proces je schématicky znázorněn na Obr.14:



Obr.14: Schématické znázornění magnetické separace složek ze vzorku.

Magnetická nanočástice, na kterou byla ukotvena protilátka byla rozptýlena v kapalném médiu obsahující antigen (složka k analýze).

Mezi základní úkoly potravinářské, klinické a enviromentální mikrobiologie patří detekce a stanovení některých mikroorganismů, zejména patogenních, případně jejich toxických metabolitů. Při použití tradičních mikrobiologických kultivačních technik je možno získat výsledky nejdříve za 3 až 4 dny. Mikrobiologický rozbor lze urychlit použitím selektivní magnetické separace. Magnetické částice nesou na svém povrchu specifické polyklonální nebo monoklonální protilátky, případně lektiny, které specificky interagují s vybranými povrchovými strukturami izolovaných mikrobiálních buněk. Komplex imunomagnetická částice – buňka je pak ze systému odstraněn pomocí magnetického separátoru a následují standardní mikrobiologické testy. Imunomagnetické částice a magnetické částice s imobilizovanými lektiny je možné využít pro separaci cílových mikrobiálních buněk přímo z analyzovaného vzorku (klinické vzorky, odpadní vody, půdy), který svou povahou představuje heterogenní systém. Jednou z dalších výhod je možnost zachycení i poškozených cílových buněk, které mnohdy nejsou detegovatelné klasickými kultivačními postupy^{146, 147}.

Jedním z příkladů uplatnění této techniky v buněčné biologii a lékařství je odstraňování nádorových buněk z kostní dřeně. Magnetické částice s imobilizovanými protilátkami proti povrchovým strukturám nádorových buněk se smíchají s odebranou kostní dření. Po navázání imunomagnetických částic na nádorové buňky se celý komplex magneticky oddělí. Jiným

příkladem je odstranění T-lymfocytů z preparátů kostní dřeně dárce při alogenních transplantacích, dále využití magneticky značených nosičů při cílené aplikaci léčiv nebo radionuklidů u nádorových onemocnění. Dalším příkladem je označování některých funkčních receptorů v buňkách L929 izolovaných pomocí magnetické separace popsané v práci Greenfielda, Suna a kol.¹⁴⁸

Analytickou techniku pracující na principu magnetické separace tzv. magnetofórezu použili Fuh, Su a kol.¹⁴² pro stanovení magnetické susceptibility buněk červených krvinek. Krvinky napřed musely být označeny různými ionty. Analytická magnetofóreza je nově vyvinutá technika pro separaci magneticky citlivých částec. Magneticky citlivé částecy jsou po průtoku po tenkém separačním kanálku (< 0.05 cm) za působení magnetického pole kolmo k toku deponovány na dno desky. Částecy s různými magnetickými susceptibilitami mohou být selektivně deponovány a separovány regulováním použité síly magnetu a rychlosti toku. Magnetická susceptibilita je důležitý parametr pro magnetickou separaci. Citlivost stanovení je založená na rovnováze mezi maximální kanálkovou rychlostí toku a magneticky indukovanou rychlostí toku pro depozici částic. Byl zkoušen nový přístup k stanovení magnetické susceptibility částice použitím rovnováhy magnetických a unášecích sil pro kontrolu magneticky indukované rychlosti částecy. Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , a Ni^{2+} ionty byly užívány pro označení buněk červených krvinek v různých koncentračních úrovních pro stanovení susceptibility. Průměr životnosti různými ionty-označených buněk červených krvinek byl $96,1 \pm 0,8$ % sekund. Stanovení susceptibility obecně zabraly méně než 10 minut. Stanovené susceptibility analytickou magnetofórezou se lišily o 10 % proti odkazům z měření používajících supravodivý kvantový interferenční magnetometr. Náklady a čas pro analýzu jsou o mnoho nižší při použití analytické magnetofórezy. Tato technika může poskytovat jednoduchou, rychlou a úspornou cestu pro stanovení susceptibility částec.

II. využití v biochemii, molekulární biologii a biotechnologiích

Mezi důležité oblasti biochemie a biotechnologie patří problematika izolace a imobilizace biologicky aktivních látek, subcelulárních organel i celých buněk. I zde je možné využít magnetický sorbentů, například v aplikované enzymologii při izolaci a imobilizaci enzymů.

Velmi často se magnetické techniky používají v molekulární biologii při práci s nukleovými kyselinami, při izolaci DNA vazebných proteinů, při detekci amplifikovaných sekvencí DNA a při mnoha dalších aplikacích. Zřejmě nejčastější aplikací je selektivní separace eukaryotní m-RNA pomocí magnetického nosiče nesoucího imobilizovaný oligodeoxythymidin.

Bioafinitní magnetické separace lze využít i pro jiné biologicky aktivní látky. Imobilizace

enzymů na magnetické nosiče je výhodná vzhledem k tomu, že takto modifikovaný biokatalyzátor je možno pomocí magnetického pole snadno odstranit ze systému po proběhnutí enzymové reakce. Jako příklad aplikace je zde uvedena izolace lysozymu z vaječného bílku na magnetickém chitinu provedené Šafaříkem¹⁴⁶: 10 ml vaječného bílku bylo přidáno k 50 ml suspenze magnetického chitinu s objemem sedimentu 10 ml. Suspenzí bylo mícháno 30 minut při pokojové teplotě. Magnetický sorbent byl pak odstraněn účinkem silného permanentního magnetu typu Ormacon přiložením na vnější stranu reakční nádoby a kapalina nad sedimentem byla odlita. Sorbent byl desetkrát promyt 50 ml vody. Lysozym byl desorbován z magnetického chitinu 50 ml kyseliny chlorovodíkové (0,01 M). Kapacita magnetického chitinu byla 2,5 mg lysozomu na 1 ml sorbentu.

Pro stanovení biologicky aktivních látek je možné použít magnetickou modifikaci standardních enzymoimunochemických nebo radioimunochemických postupů. Při nejčastěji používaných postupech jsou specifické protilátky imobilizovány na povrch stěn zkumavek nebo jamek mikrotitračních destiček, což umožňuje následnou separaci navázaného a volného značeného antigenu. Tato technika však vykazuje určité nedostatky, například omezenou plochu pro imobilizaci (většinou sorpci) protilátek, pomalý průběh reakce nebo možnou desorpci protilátky. Tyto nevýhody je možné odstranit, pokud je protilátka kovalentně navázána na magnetické mikročástice, které je možné po skončení reakce spolu s navázaným značeným antigenem magneticky zachytit na stěnu nebo dno zkumavek nebo jamek mikrotitračních destiček. Po jejich následném promytí je možné zjistit množství značeného navázaného antigenu.

Magnetické částice byly použity i pro stanovení biologicky aktivních látek pomocí modifikované průtokové injekční analýzy. V tomto případě jsou magnetické částice nesoucí vhodný ligand zachyceny v průtokovém reaktoru pomocí elektromagnetu a vytváří tak ekvivalent průtokového reaktoru. Po proběhnutí reakce jsou elektromagnety vypnuty a magnetické částice jsou z reaktoru vymyty. Pro novou analýzu je nastříknuta nová dávka magnetických částic. Při tomto postupu odpadá nutnost regenerace částic, jako je tomu v případě kolonových reaktorů¹⁴⁷.

III. využití v ekologii

Ekologické aplikace magnetických separací vyžadují většinou použití průmyslových bubnových magnetických separátorů, které se běžně používají v průmyslu (např. při čištění železné rudy, některých potravinářských surovin, v uhelném průmyslu a jinde) nebo průmyslových vysokogradientových magnetických separátorů. Vhodně připravené a cenově

dostupné magnetické sorbenty mohou najít široké uplatnění například při čištění odpadních vod a v různých dekontaminačních procesech. Magnetické techniky jsou v těchto případech obzvláště výhodné, protože se většinou jedná o práci v suspenzích¹³¹.

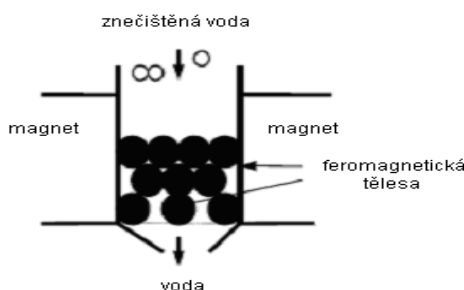
Odpadní vody s obsahem ropných látek, těžkých kovů a jiných škodlivin, představují vážný problém pro životní prostředí. Při odstraňování ropných látek z vody pomocí magnetického pole je potřebné zvýšit jejich magnetickou susceptibilitu. Pro tyto účely je možno použít vhodné ferokapaliny. Feromagnetická kapalina je druh vícefázové kapaliny, která je stabilní koloidní soustavou dostatečně malých magnetických částic pokrytých vrstvou povrchově aktivních látek rozptýlených v nosné kapalině. Podstatou čištění vod od ropných produktů magnetickým polem s použitím ferokapalin je využití působení magnetického pole na magnetickou kapalinu. Do ropou znečištěné vody je přidávána ferokapalina mísitelná s ropou. Po promíslení dochází u původně nemagnetické ropy ke zvýšení její magnetické susceptibility na dostatečnou míru pro její magnetickou separaci z vody¹⁵⁰.

Další možnou aplikací ferokapalin je jejich využití pro modifikaci vlastností tuhých částic, která je založená na schopnosti adsorpce ferokapalin na hydrofóbní plochy. Nemagnetická tělesa dispergovaná ve ferokapalině mohou interagovat s její tuhou fází. Vznikne agregát složený z nemagnetické částice obalené koloidními magnetickými částicemi. Nově vzniklý útvar má jiné fyzikální vlastnosti než původní částice. I v tomto případě je rozhodující změna magnetické susceptibility. Ke zvýšení magnetické susceptibility zrna o poloměru 100 μm o dva řády je nutná adsorpce 1,2 - 10 kg ferokapaliny s magnetickou susceptibilitou 0,5.

Pro čištění kontaminovaných vod měďnatými solemi byla využita technika magnetické filtrace. Princip magnetické filtrace je schématicky znázorněn na Obr. 15. Jádro sorbentu bylo tvořené magnetitem, který byl mlet v 5 % roztoku $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. Na 100 g magnetitu bylo použito 20 ml roztoku $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. Vzniklá pasta byla za intenzivního míchání přidávána do vody kontaminované měďnatými ionty, jejichž koncentrace byla 48,2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Podstatné snížení obsahu Cu^{2+} po magnetické filtraci přes železné kuličky umístěné v magnetickém poli (0,3 T) na hodnotu 3,7 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ bylo dosaženo přidáním 25 g magnetické pasty na litr kontaminované vody¹⁵¹.

Magnetické sorbenty byly ověřovány i pro některé další aplikace, jako je například selektivní odstraňování těžkých kovů a některých radionuklidů (zejména deriváty chitosanu nebo magnetovcem pokrytým vrstvou hydratovaných oxidů železa), odbarvování odpadních vod z papírenského průmyslu, zachycení rozlitých ropných produktů z kontaminovaných vod a odstraňování některých organických kontaminant. Bylo rovněž zjištěno, že magnetickými

deriváty ftalocyaninu mědi lze selektivně adsorbovat a následně odstranit organické sloučeniny s planární strukturou, jako jsou polyaromatické uhlovodíky s třemi nebo více kondenzovanými aromatickými kruhy nebo trifenylmethanová barviva¹³¹.



Obr.15: Schéma zařízení pro magnetickou filtraci

Při ekologických aplikacích magnetických separací se většinou využívají průmyslové bubnové magnetické separátory (i vysokogradientové). Tato metoda je zvláště výhodná, neboť se v těchto případech jedná zejména o práce v suspenzích (heterogenních systémech).

Jedno z nejstarších použití magnetické separace anorganických látek v ekologii je regenerace kovů ze struskových materiálů, o kterém pojednávají ve své práci Shen a Forsberg¹⁵². Čištění vod od rozpuštěných fosfátů pomocí jejich srážení za současného naočkování sraženiny magnetitem a následného odstranění jemné sraženiny vysoko gradientovou magnetickou separací popsali ve své práci Shaikh a Dixit¹⁵³.

Shaikh, Dixit a Venkatachalam¹⁵⁴ se ve své další práci zabývali funkcí magnetitu a olejanu sodného při pokrývání povrchu vápence před jeho vysokogradientovou separací. Vápenec, který je sám o sobě nemagnetický, byl pokryt feromagnetickým magnetitem. Tento pokrytý vápenec může být získán jako magnetická frakce při vysokogradientové magnetické separaci. Role magnetitu a olejanu sodného přidaného během pokrývání povrchu byla vyšetřována měřením magnetické susceptibility, elektrokinetickými experimenty a pomocí FTIR. Částičky magnetovce se navazují k povrchu jen v několika bodech a olejan sodný pomáhá procesu heteroflokulace chemickou interakcí, při které se uskutečňuje polymerace mezi řetězci olejanu formováním -C-O-C- vazeb.

Fuh, Tsai a Lai¹⁵⁵ popsali možnosti kontinuální magnetické split-flow frakcionace (SF) tuhých částic. Jemná frakcionace děleným tokem je určena pro předběžné separace makromolekul, koloidů a částic s množstvím maximálně řádově v rozsahu gramů za hodinu, v závislosti na aplikovaném poli. Magnetická separace využívající permanentní magnety je rychlá, jednoduchá, vysoce selektivní a úsporná. Kontinuální magnetická frakcionace je nově vyvinutý druh SF technik pro oddělování magneticky citlivých částic.

Částičky s různými stupni magnetické citlivosti mohou být odděleny do dvou frakcí regulováním kolmo působící síly magnetu a rychlosti toku v přítocích a odtocích. Předběžné užití magnetické SF bylo studováno používáním různě magneticky citlivých částic a směsí. Pomocí různých rozměrů separačního kanálku, koncentrace vzorku, síly magnetického pole a kanálkové rychlosti toku byli zkoumány možnosti separace. Výtěžnosti magneticky citlivých malých částic byly vyšší než 94 %. Kontinuální oddělování částic používající magnetickou SF bylo úspěšné po 8 hod. Výkon magnetické SF byl přibližně $3 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$ při použití experimentálních podmínek. Výkon může být zvýšen použitím delšího kanálku, širšího kanálku a silnějšího magnetického pole. Tato technika ukázala dobrý potenciál pro oddělování magneticky citlivých koloidů a částic.

Při čištění odpadních vod mohou být použity magnetické ionexy. Magnetovec, který nese v mírně kyselém pH kladný náboj, na sebe adsorbuje ve vodě přítomné nečistoty nesoucí záporný náboj. Po zvýšení pH se nečistoty desorbují a magnetovec se vrací zpět do procesu.

Magnetit použili pro regeneraci a recyklaci kovů z odpadních vod ve své práci Chen, Anderson a Holsen¹⁵⁶. Byly použity 2 typy sorbentů. Prvním byl magnetit o průměru částic $16 \mu\text{m}$ složený ze 67 % Fe; 20,6 % Fe^{2+} a 5,5 % SiO_2 promytý před experimentem zředěnou HNO_3 , opláchnutý deionizovanou vodou a vysušený při $103 \text{ }^\circ\text{C}$. Druhým sorbentem byl magnetit potažený $\text{Fe}(\text{OH})_3$, pH suspenze magnetitu v $0,001 \text{ M Fe}(\text{NO}_3)_3$ roztoku bylo upraveno na hodnotu 8 pomocí NaOH a po 5 minutách byly částice magneticky odstraněny. Jeden kompletní cyklus úpravy odpadní vody zahrnoval proces adsorpce, magnetické odstranění tuhé fáze a její převod k desorpci, a návrat tuhé adsorbentu zpět do nového cyklu. Docházelo k odstranění a regeneraci kovů z více než 90 % po jedné adsorpci/desorpci.

Syntézu porézních magnetických chitosanových částic pro odstranění kadmiových iontů z odpadních vod popisují ve své práci Rorrer, Way a Hsien¹⁵⁷. Chitosan je bipolymer schopný adsorbovat kovové ionty z vodných roztoků. Vysoce porézní chitosanové částice byly připraveny přidáním kyselého roztoku chitosanu do roztoku NaOH . Gelové chitosanové částice byly zesíťovány pomocí glutaraldehydu a následně vysušeny zmražením. Tímto postupem vznikají částičky o průměru 1 až 3 μm . Částice s průměrem 1 μm mají velikost povrchu přesahující $150 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ a průměrná velikost pórů $560 \times 10^{-10} \text{ m}$. Adsorpční izoterma při $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a pH 6,5 v rozsahu koncentrací 1 až $690 \text{ mg Cd}^{2+}\cdot\text{l}^{-1}$ má stupňovitý tvar a maximum adsorpční kapacity pro částice s průměrem 130 nm je 518 až $188 \text{ mg Cd}^{2+}\cdot\text{g}^{-1}$ částic.

Bolto¹⁵⁸ popisuje adsorpční a koagulační procesy, které se týkají technologie magnetických částic pro zpracování odpadních vod.

Bahaj, James a Moeschler¹⁵⁹ popisují možnosti využití tzv. magnetotaktických bakterií při

čištění odpadních vod od těžkých kovů nebo organických látek. Mnoho mikroorganismů má afinitu k akumulaci iontů kovů na svém povrchu, což má za následek ukládání kovu do biomasy. Mikrobiální biomineralizace železa produkuje biomasu, která je často silně magnetická a může být oddělena od vodních systémů použitím magnetického pole. Tato práce pojednává o magnetické separaci biomasy pomocí buňky, která obsahuje oxid železatoželezitý, a zároveň extracelulárně produkuje sírany, které jsou redukovány na sulfid železa. Díky afinitě k těžkým kovům či akumulaci organického materiálu a možnosti jejich magnetické separace jsou tyto bakterie s výhodou využívány pro odstraňování polutantů z odpadní vody. Byla diskutována relativní vhodnost každé bakterie k technikám magnetické separace v rámci aplikovaného magnetického pole a čistících podmínek.

Práce Lawruka a kol.¹⁶⁰ se zabývá využitím magnetických částic ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) pro detekci selektivního syntetického herbicidu alachloru, kyseliny 2,4-dichlorfenoxyoctové a příbuzných herbicidů.

Příkladem odstraňování organických nečistot z vody pomocí magnetického aktivovaného kalu je studie Sakaie, Miama a Takahashiho¹⁶¹. Magnetická separace byla připojena k procesu aktivovaného kalu pro zlepšení separace tuhé od kapalné fáze charakteristické pro kal. Postup byl ovládaný metodou střídavého provzdušňování, a aplikovaný pro odstranění organické a dusíkaté hmoty v odpadní vodě. Aktivovaný kal doplněný práškem magnetovce (Fe_3O_4) tzv. magnetický kal vykazuje feromagnetické vlastnosti a ukládá se proto na povrchu magnetických disků. Přístroj pro magnetickou separaci, složený z otáčivých magnetických disků a škrabek, odděluje vodu ze suspenze kalu $13 - 22 \text{ g.l}^{-1}$ v 5 minutách. Ve srovnání s postupem separace usazováním, ukázala technika magnetické separace lepší výkonnost. Současné odstranění asi 89% dusíkaté hmoty a okolo 92 % rozpustných organických látek bylo v přítoku provedeno při zatížení $0,92 \text{ g.l}^{-1}.\text{d}^{-1}$ rozpuštěných organických látek a $0,10 \text{ g.l}^{-1}.\text{d}^{-1}$ dusíkatých látek, s cyklem (neprovzdušňování / provzdušňování) 40/20 minut.

Způsob odstranění fenantrenu ze znečištěných půd pomocí anionických detergentů ve spojení s magnetickou separací popsali Park a Jaffe¹⁶².

Šafařík¹⁶³ se zabýval izolací a odstraněním organických polycyklických sloučenin z vodních suspenzí pomocí magnetických chitosanových gelových částic obsahujících kovalentně imobilizované barvivo – ftalocyanin mědi. K suspenzi modrého magnetického chitosanu byl přidán roztok polycyklického testovaného barviva. Po 4 hodinách míchání při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ se ze suspenze odseparovaly částice magnetického chitosanu a čirá kapalina nad sedlinou byla odebrána pro určení absorbance. Koncentrace volného nevázaného barviva v kapalině nad sedlinou byla stanovena pomocí spektrofotometricky kalibrační metodou a množství

vázaného barviva bylo odečteno z rozdílu koncentrací před a po navázání barviva. Naadsorbované barvivo lze ze sorbentu eluovat směsí methanol – koncentrovaný amoniak (50:1) nebo 10 %-ní CH_3COOH . Zachycení jemných částic magnetitu do struktury zesítěného chitosanu tedy vede k tvorbě magnetických gelových částic s volnou hydroxylovou skupinou. Lze je připravit jednoduchým způsobem a jsou snadno odstranitelné z roztoků nebo suspenzí pomocí permanentního magnetu. Mohou být použity pro adsorpci různých organických sloučenin s polycyklickou strukturou.

Imobilizovaný ftalocyanin mědi také využil Šafařík¹⁶⁴ při studiu sorpce trifenylmethanových barviv. Adsorpce probíhala ve vodném prostředí za vzniku komplexu mezi imobilizovaným ligandem a polycyklickou sloučeninou. Desorpce byla provedena elucí organickými rozpouštědly, kdy směs methanol-amoniak je neúčinnější. Barviva obsahující 2 nebo 3 amino-skupiny se na modrý magnetit silně sorbují, zatímco trifenylmethanová barviva s hydroxy-skupinou jen velmi slabě. Byla vyslovena domněnka, že schopnost sorpce organických látek na modrý magnetit je podmíněna spojením 2 efektů.

1.7 Shrnutí obecné části

Oxyethylenované alkylfenoly patří mezi tenzidy, jejichž použití je stále velice rozsáhlé a zasahuje do různých průmyslových odvětví a prakticky všechna průmyslová odvětví k nim mají bezprostřední vztah. Mají však také v některých případech řadu negativních vlastností jako toxicitu, estrogenitu či horší biologickou rozložitelnost.

Z v minulosti provedených prací vyplývá, že na biologickou rozložitelnost NPnEO má z hlediska chemické struktury zásadní vliv délka oxyethylenového řetězce: čím méně oxyethylenových skupin molekula obsahuje, tím silnější je její lipofilní charakter a tím méně je náchylná k biodegradaci. Pro posuzování průběhu biodegradace tenzidů byly navrženy analytické metody aplikované pro jejich stanovení ve vodách, tj. pro neionické tenzidy jejich reakce s tetrajodobismutitanem.

Další metody jsou na základě stanovení úbytku DOC z biologického média, resp. biochemické spotřeby kyslíku (BSK), které slouží hlavně ke stanovení úplné biologické rozložitelnosti. Poslední druh metod je založen na instrumentálních analytických postupech (HPLC a GC), které umožňují sledovat biologickou degradaci jednotlivých individuí, včetně sledování metabolitů.

Co se týče extrakce NPnEO z vodného prostředí, tak z rešerší vyplývá, že je možné využít LLE, SPE, či SPME. LLE může však vést ke vzniku emulze a také má velkou spotřebu

rozpouštědel. U SPME byla krátká životnost vláken a nastávají problémy s regenerací a ucpáváním kolonek. Dalšími používanými metodami jsou SBSE, LLLME, LGLME a další.

Pro stanovení NPnEO ve vodném prostředí lze využít spektrofotometrických či chromatografických metod. Při našem výzkumu jsme využívali kapilární plynovou chromatografii.

1.8 Záměr práce

Naším záměrem bylo využít nově se rozvíjející metody extrakce magnetickou tuhou fází vzhledem k její rychlosti a jednoduchosti i při objektivním posuzování problematiky primární a úplné biologické rozložitelnosti stále hojně v průmyslu používaných oxyethylenovaných 4-nonylfenolů. Nejdůležitějším krokem před analytickým stanovením reziduí nerozloženého testovaného oxyethylenovaného 4-nonylfenolu a jeho metabolitů je jejich extrakce z vodné fáze. U extrakce magnetickou tuhou fází jsme využívali vhodné typy levných, snadno dostupných a v praxi používaných sorbentů po jejich magnetické modifikaci. Dále jsme se snažili využít tyto sorbenty i k extrakci reziduí oxyethylenovaných NP a jejich metabolitů ze vzorků povrchových vod.

Pro stanovení NPnEO ve vodném prostředí lze využít spektrofotometrických či chromatografických metod. Při našem výzkumu jsme využívali kapilární plynovou chromatografii.

2. Experimentální část

2.1 Použité chemikálie

použité chemikálie	dodavatel	
HCl p.a.	Lachema Neratovice	
toluen p.a.		
Methanol p.a.		
4-Nonylfenol (technická směs) 94%	Riedel de Haen	
4- <i>n</i> -Nonylfenol 98%	Lancaster	
4-Nonylfenol (technická směs) 99%	Sigma Aldrich	
4- <i>n</i> -Oktylfenol 99%		
4- <i>terc</i> -Oktylfenol 99%		
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol 99%		
3,5-Di- <i>terc</i> -butylfenol 99%		
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol 99%		
2,4-Diisopropylfenol 99%		
2,6-Diisopropylfenol 97%		
2,6-Di- <i>terc</i> -butyl-4-methylfenol 99%		
4- <i>n</i> -Propylfenol 99%		
4-Nonylfenol (technická směs)		Sloveca Nováky
4-Nonylfenol monoxyethylenát (NP1EO) tech.		
4-Nonylfenol dioxyethylenát (NP2EO) tech.		
4-Nonylfenol trioxyethylenát (NP3EO) tech.		
4-Nonylfenol monoxyethylenát (4- <i>n</i> -NP1EO) čistý	Syntetizováno na pracovišti Univerzity Pardubice	
4- <i>n</i> -Nonylfenoxyoctová kyselina (4- <i>n</i> -NP1EC) čistá		
4-Nonylfenol dioxyethylenát (4- <i>n</i> -NP2EO) čistý		
4- <i>n</i> -Nonylfenoxyethoxyoctová kyselina (4- <i>n</i> -NP2EC) čistá		
4-Nonylfenol trioxyethylenát (4- <i>n</i> -NP3EO) čistý		
4- <i>n</i> -Nonylfenoxy(ethoxy)ethoxyoctová kyselina (4- <i>n</i> -NP3EC) čistá		

helium 4.6	Linde Technoplyn
Vodík 3.0	
Chezacarb S	Chemopetrol, ČR
Chezacarb B	Chemopetrol, ČR
Poly(oxy-2,6-dimethyl-1,4-fenylen)	Aldrich, Německo
Chromosorb 101 (80/100 mesh)	Johns-Manville, USA
Chromosorb 102 (80/100 mesh)	Johns-Manville, USA
Chromosorb 103 (80/100 mesh)	Johns-Manville, USA
Chromosorb 104 (80/100 mesh)	Johns-Manville, USA
Chromosorb 105 (80/100 mesh)	Johns-Manville, USA
Chromosorb 106 (80/100 mesh)	Johns-Manville, USA
Al ₂ O ₃ (1 – 5 µm)	Aldrich, USA
DPA-6S (30 – 60 µm)	Supelco, USA
Tenax GC (60/80 mesh)	Serva, Německo
Tenax GR (80/100 mesh)	Serva, Německo
Tenax TA (80/100 mesh)	Serva, Německo
Tonsil (1 – 5 µm)	poskytla firma Farnet, ČR
Porapak S (100/120 mesh)	Water Assoc., USA
Rudex (1 – 5 µm)	poskytla firma Farnet, ČR

Hmotnost sušiny magneticky modifikovaných sorbentů v 0,2 ml vodné suspenze

sorbent	hmotnost (mg)
Chezacarb S	2,1
Chezacarb B	17,1
PFO	19,6
Chromosorb 101	9,3
Chromosorb 102	15,9
Chromosorb 103	15,2
Chromosorb 104	17
Chromosorb 105	23,2
Chromosorb 106	10,1
DPA	10,2
Tenax GC	9,8
Tenax GR	16
Tenax TA	9,1
Tonsil	29
Porapak S	10,9
Rudex	31,2

2.2 Použité přístroje a zařízení

<i>přístrojové vybavení</i>	typ	výrobce
plynový chromatograf s plamenovým ionizačním detektorem	5160 HRGC	Carlo Erba
chromatografické stanice	CSW32 a Clarity	Dataapex s.r.o.
rotační míchačka	Reax 2	Heidolph
vibrační míchačka	Reax Top	Heidolph
topné hnízdo	LTHS 50	Brněnská drutěva
pipety	10 ml	Eppendorf
pipety	10 µl - 1 ml	Biohit
magnetický separátor	dvoumagnetový	vlastní výroba
mikrostříkačky	5 - 250 µl	Hamilton
křemenná kapilární kolona	DB-5 15m x 0,25mm x 0,1µm	J&W Scientific
křemenná kapilární kolona	DB-HT 30m x 0,25mm x 0,1µm	J&W Scientific

Další vybavení: Soxhletův extraktor, baňky, kádinky, odměrné válce, zkumavky, vialky, dělicí nálevky

2.3 Pracovní podmínky

Kapilární plynový chromatograf (CGC):

Analýza technické směsi nonylfenolů od firmy Sloveca:

Teplota nástřiku: 250°C

Teplota kolony: 120°C (2 min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 180°C (2 min)

Teplota detektoru: 250°C

- křemenná kapilární kolona (DB-5 15m x 0,25mm x 0,1µm)

Analýza směsi alkylfenolů:

Teplota nástřiku: 240°C

Teplota kolony: 80°C (2 min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 180°C (2 min)

Teplota detektoru: 240°C

- křemenná kapilární kolona (DB-5 15m x 0,25mm x 0,1µm)

Analýza NP(1-3)EO a NP(1-3)EC:

Teplota nástřiku: 280°C

Teplota kolony: 120°C (5 min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 220°C (8 min)

Teplota detektoru: 280°C

- křemenná kapilární kolona (DB-HT 30m x 0,25mm x 0,1µm)

Analýza vzorků z Labe a přehradní nádrže Rozkoš:

Teplota nástřiku: 240°C

Teplota kolony: 120°C (2 min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 220°C (1 min)

Teplota detektoru: 240°C

- křemenná kapilární kolona (DB-HT 30m x 0,25mm x 0,1µm)

- tlak vodíku byl u všech analýz 60 kPa, tlak helia také 60 kPa a tlak vzduchu 70 kPa

2.4 Pracovní postup

2.4.1 Příprava modelových roztoků alkylfenolů

Byly připraveny modelové roztoky technické směsi NP ve vodě, směsi AP ve vodě a směsi NP(1-3)EO a od nich odvozených karboxylových kyselin ve vodě - NP(1-3)EC. Směs AP se skládala z 4-*n*-propylfenolu, 2,4-diisopropylfenolu, 2,4-di-*terc*-butylfenolu, 4-*terc*-oktylfenolu, 2,4-di-*terc*-pentylfenolu, 4-*n*-oktylfenolu a 4-*n*-nonylfenolu. Nejdříve bylo 0,5 g standardů s přesností na čtyři desetinná místa naváženo do 100 ml odměrné baňky a doplněno methanolem po rysku. Z tohoto zásobního roztoku byly ředěním získány kalibrační roztoky. Dále z tohoto roztoku bylo napipetováno 5 ml do 0,5 l odměrné baňky a doplněno destilovanou vodou, tím byl získán modelový vodný roztok. 10 ml tohoto vodného modelového roztoku, který byl vždy připraven před analýzou, bylo vneseno do zkumavky a po okyselení kyselinou chlorovodíkovou na pH 2 podrobena extrakci testovaným magneticky modifikovaným sorbentem, jejíž postup je popsán v kapitole 2.4.4. Získaný extrakt byl poté analyzován plynovou chromatografií za podmínek uvedených v kapitole 2.3.

2.4.2 Zpracování vzorků po testech biologické rozložitelnosti

Testy na biologickou rozložitelnost byly provedeny na pracovišti Ústavu technologie vody a prostředí fakulty technologie ochrany prostředí na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze spolupracujícím s námi na řešení společného projektu GAČR 203/03/1028. Roztoky testovaných látek byly inokulovány směsnou kulturou mikroorganismů pocházejících z aktivovaného kalu a test trval 28 dní. Po ukončení testování byly po oddělení fází a provedení oplachu získány vždy tři vzorky, a to methanolové oplachy reaktorů, filtry s biomasou a vlastní vodné filtráty. Methanolové oplachy byly před chromatografickou

analýzou jen zakoncentrovány odpařením. Filtry s biomasou byly nejdříve extrahovány methanolem v Soxhletově extraktoru. Extrakce trvala 6 hodin a bylo k ní použito 50 ml methanolu. Methanolvý extrakt byl poté zakoncentrován odpařením. Vlastní filtráty byly extrahovány po 200 ml s 10 ml toluenu po předchozím okyselení kyselinou chlorovodíkovou na pH 2 na třepačce s překlopným otáčivým pohybem po dobu 30 minut. Rychlost otáčení byla volena tak, aby toluen byl rozptýlován v celém objemu. Toluenová fáze byla oddělena a spojené extrakty byly zakoncentrovány odpařením. Takto získané zakoncentrované extrakty byly analyzovány kapilární plynovou chromatografií za podmínek uvedených v kapitole 2.3. Vzorky filtrátů po biologické rozložitelnosti byly extrahovány magneticky modifikovaným sorbentem za zoptimalizovaných pracovních podmínek podle postupu uvedeného v kapitole 2.4.4. Výsledky stanovení významných metabolitů NP, NP1EO, NP2EO, NP3EO, NP1EC, NP2EC a NP3EC byly předávány spolupracujícímu pracovišti.

2.4.3 Zpracování vzorků vody z řeky Labe a přehradní nádrže Rozkoš

Vzorky vody z řeky Labe byly odebrány do skleněných 1 l zábrusových lahví v Pardubicích blízko mostu P. Wonky, vedle ČEZ arény. Vzorky z přehradní nádrže Rozkoš byly odebrány též do skleněných lahví a to u ústí spojnice přehradní nádrže s řekou Úpa v České Skalici. Jelikož v těchto vzorcích byly stanovovány tenzidy, tak tyto lahve nebyly vymývány detergentem (jak doporučuje norma⁵⁵), aby nedošlo k ovlivnění výsledků, ale byly vymývány kyselinou chromsírovou. Byly odebrány vždy 3 litry vody. Poté byl jeden litr vzorku přefiltrován pro potřeby kapalinové extrakce, aby se odstranily nečistoty a postupně extrahován po 200 ml. 200 ml vzorku bylo tedy převedeno do kuželových baněk, pH bylo upraveno kyselinou chlorovodíkovou na 2, jak je doporučeno v normě¹⁶⁵ a poté bylo přidáno 10 ml toluenu. Baňka byla třepána 0,5 hodiny, organická fáze byla oddělena v děličce a spojené extrakty byly odpařeny na objem 0,1 ml. Takto získaný extrakt byl analyzován plynovou chromatografií za podmínek uvedených v kapitole 2.3. Odebrané vzorky byly také extrahovány magneticky modifikovaným sorbentem za nalezených optimálních podmínek po předchozí úpravě pH kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu 2. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách v kapitole 3.3.

2.4.4 Postup při extrakci magneticky modifikovaným sorbentem

Při extrakci studovaných analytů ze vzorku vod anebo čerstvě připravených modelových roztoků bylo vždy stejné množství a to 10 ml vneseno do 15 ml konické uzavíratelné zkumavky. Hodnota pH byla upravena kyselinou chlorovodíkovou na 2. Poté bylo přidáno

konstantní množství (0,2 ml) suspenze magnetického sorbentu. Suspenze sorbentu byla připravena tak, že do kalibrované zkumavky bylo dáno 2 ml sorbentu a 6 ml destilované vody, takže bylo získáno 8 ml suspenze při poměru 1:3. Směsí vzorku vody a suspenze sorbentu bylo pomocí laboratorní třepačky typu Vortex mícháno vibračně-krouživým způsobem zvolenou dobu při frekvenci třepána 2400 min^{-1} . Tím byla urychlena sorpce analytu na sorbent. Poté byl magnetický sorbent odseparován za použití permanentního magnetu a vodná fáze odlita. Do zkumavky se sorbentem a nasorbovanými analyty bylo přidáno zvolené množství elučního rozpouštědla (1 ml methanolu) a tato suspenze byla míchána na stejné míchačce typu Vortex po zvolenou dobu při frekvenci třepání jako při sorpci. Tím došlo k rychlé eluci analytu ze sorbentu. Magneticky modifikovaný sorbent byl opět odseparován pomocí permanentního magnetu a extrakt s analytem odlit pro následnou analýzu plynovou chromatografií za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3. Eluce rozpouštědlem se ještě dvakrát opakovala s 1 ml methanolu. Jako magneticky modifikované sorbenty byla použita celá řada námi vybraných sorbentů používaných jak v chromatografii, tak v průmyslové praxi. Laboratorní magnetická modifikace sorbentů byla provedena v Ústavu ekologie krajiny na Akademii věd ČR v Českých Budějovicích v rámci spolupráce na řešení projektu GAČR 203/03/1070. Použité sorbenty jsou uvedeny v kapitole 3.1.

2.4.4.1 Optimalizace extrakce magneticky modifikovanými sorbenty

V celém extrakčním postupu byly vytipovány čtyři proměnné, na nichž zřejmě nejvíce závisí výtěžnost extrakce. První proměnnou byla doba styku vzorek vody – vybraný magneticky modifikovaný sorbent, tedy doba potřebná k sorpci analytu na sorbent. Jako druhá proměnná byla označena doba styku elučního rozpouštědla – sorbent s analytem, tedy doba eluce, resp. desorpce analytu ze sorbentu. Třetí proměnnou bylo množství rozpouštědla, které bylo použito pro eluci. Čtvrtou proměnnou byl počet opakování elucí. Experimenty byly provedeny tak, že nejdříve byla určena konstantní doba desorpce (1 min), množství rozpouštědla (1 ml) a počet elucí (1 krát) a doba sorpce byla proměnnou. Ze závislosti výtěžnosti na době sorpce byla následně vybrána optimální doba sorpce za použité frekvence třepání 2400 min^{-1} vibračně-rotacího způsobu míchání suspenze, které zajišťovalo pohyb tuhé fáze v celém objemu zkumavky. Poté bylo postupováno obdobně a proměnnou byla doba desorpce, následovalo množství elučního rozpouštědla a nakonec počet opakovaných elucí. Z jednotlivých závislostí byly tedy postupně vybírány optimální podmínky extrakcí pro jednotlivé sorbenty a analyty. Výsledky ze studia optimalizace jsou uvedeny v tabulkách a grafech v kapitolách 3.1 a 7.

3. Výsledky a diskuse

3.1 Extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty

Po sestrojení kalibračních grafů pomocí standardních roztoků byla k analýze extraktů použita kapilární plynová chromatografie. Ze získaných hodnot byly při optimalizaci sestrojeny závislosti výtěžnosti na optimalizovaném parametru pro všechny použité sorbenty. Z těchto křivek byly odečteny optimální hodnoty pro čas sorbce, čas statické eluce, množství elučního rozpouštědla a počet opakovaných elucí. Zjištěné hodnoty z optimalizace jsou uvedeny v kapitolách 3.1.1 a 3.1.2.

Modelová směs alkylfenolů pro ověření sorpčních vlastností použitých magneticky modifikovaných sorbentů se skládala z 4-*n*-propylfenolu, 2,4-diisopropylfenolu, 2,4-di-*terc*-butylfenolu, 4-*terc*-oktylfenolu, 2,4-di-*terc*-pentylfenolu, 4-*n*-oktylfenolu a 4-*n*-nonylfenolu. U magneticky modifikovaných sorbentů PFO, Chezacarb B a S modelová směs alkylfenolů při optimalizaci podmínek extrakce ještě neobsahovala 4-*terc*-oktylfenol.

Pro extrakci byly použity tyto magneticky modifikované sorbenty: Chezacarb S a B; PFO; Al₂O₃; DPA; Chromosorby 101 až 106; Tenaxy GR,GC a TA; Rudex, Porapak S a Tonsil. Výsledky ze studia extrakcí modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty byly publikovány v pracích Č4, Č8, K1, P6 (viz kapitola 6. Přehled publikační činnosti).

3.1.1 Optimalizace podmínek extrakce s vybranými magneticky modifikovanými sorbenty

Pro názornost jsou v této části práce uvedeny následující tabulky a grafy, které znázorňují závislosti výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na optimalizovaných parametrech pro vybrané tři zástupce různých druhů magneticky modifikovaných sorbentů. Jako tyto zástupci byly vybrány: Chromosorb 103, Chezacarb B a Rudex. Data pro konstrukci uvedených grafů jsou obsaženy v Přílohách. Jelikož optimalizace podmínek extrakce magneticky modifikovanými sorbenty mají obdobný průběh, tak budou dále jen uvedeny zjištěné výsledky optimalizace jednotlivých parametrů v kapitole 3.1.2. Ostatní naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulkách a grafech, které jsou součástí Příloh.

Tab.VII. Nalezené optimální hodnoty extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaných sorbentech Chromosorb 103, Chezacarb B a Rudex

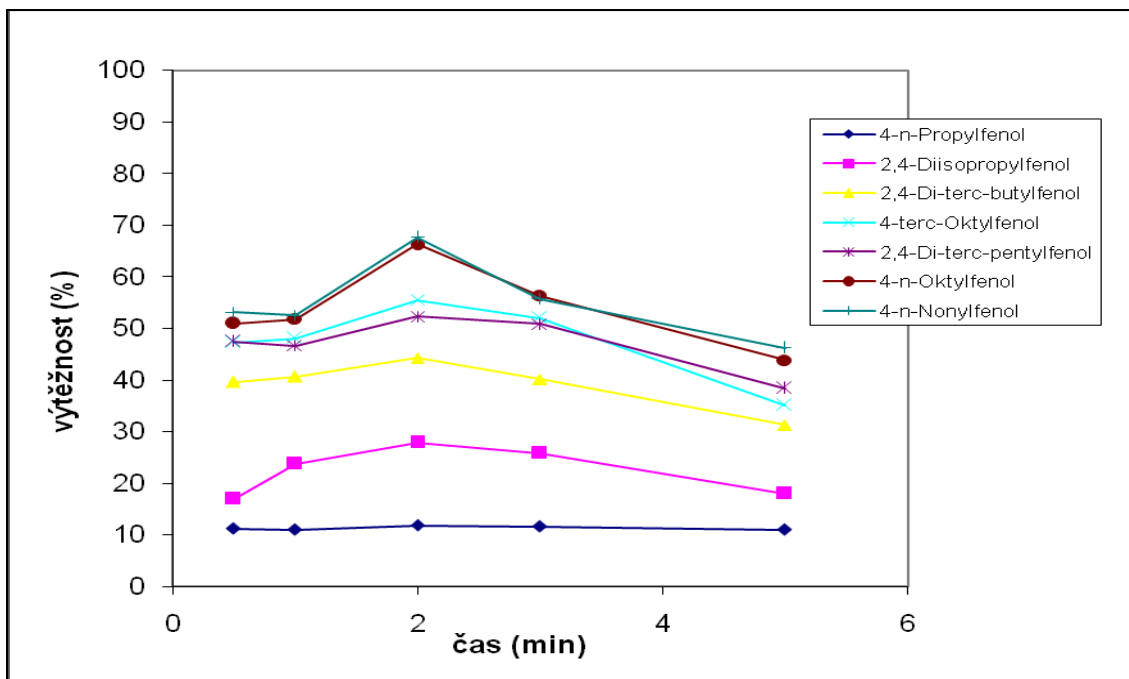
Proměnná/Sorbent	Chromosorb 103	Chezacarb B	Rudex
doba sorpce (min)	2	2	2
doba statické eluce (min)	1	1	2
množství elučního rozpouštědla (ml)	1	1	1
počet opakovaných elucí 1 ml MeOH	3	3	3

Tab.VIII. Výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody v procentech za optimálních podmínek při použití magneticky modifikovaných sorbentů Chromosorb 103, Chezacarb B, Rudex

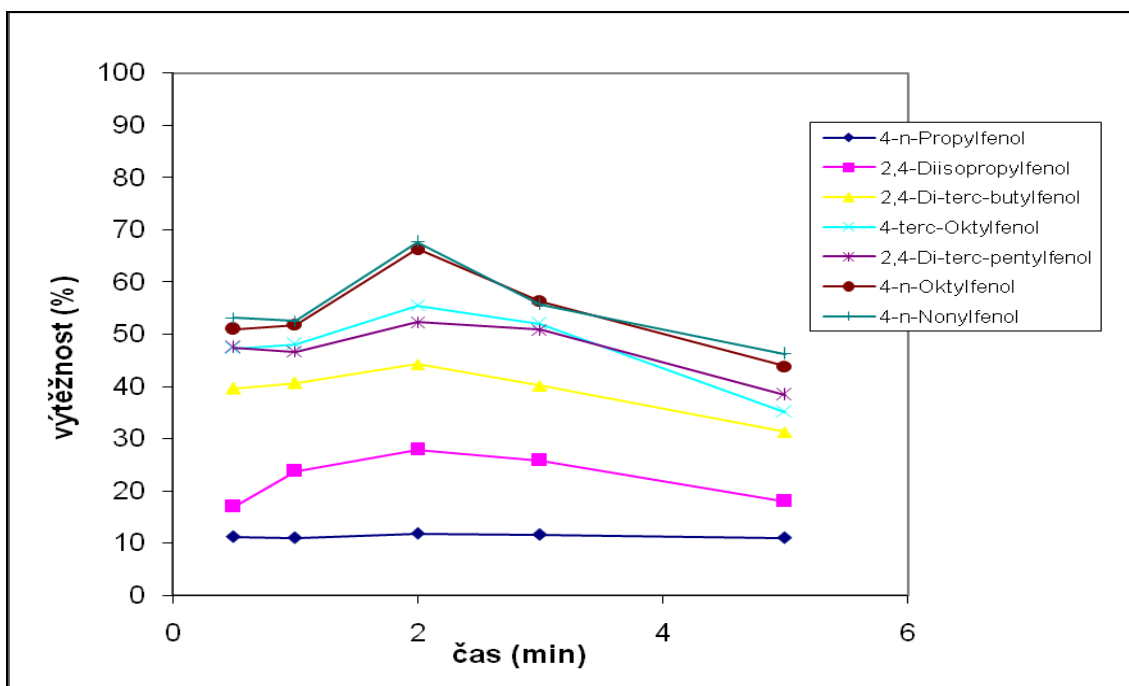
látka	Chromosorb 103 (%)	Chezacarb B (%)	Rudex (%)
4- <i>n</i> -Propylfenol	27	16	25
2,4-Diisopropylfenol	41	47	40
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	62	74	62
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	82	xxx	68
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	76	80	73
4- <i>n</i> -Oktylfenol	96	87	77
4- <i>n</i> -Nonylfenol	99	89	76

Výsledky jsou interpretovány dále na konci kapitoly 3.1.2.

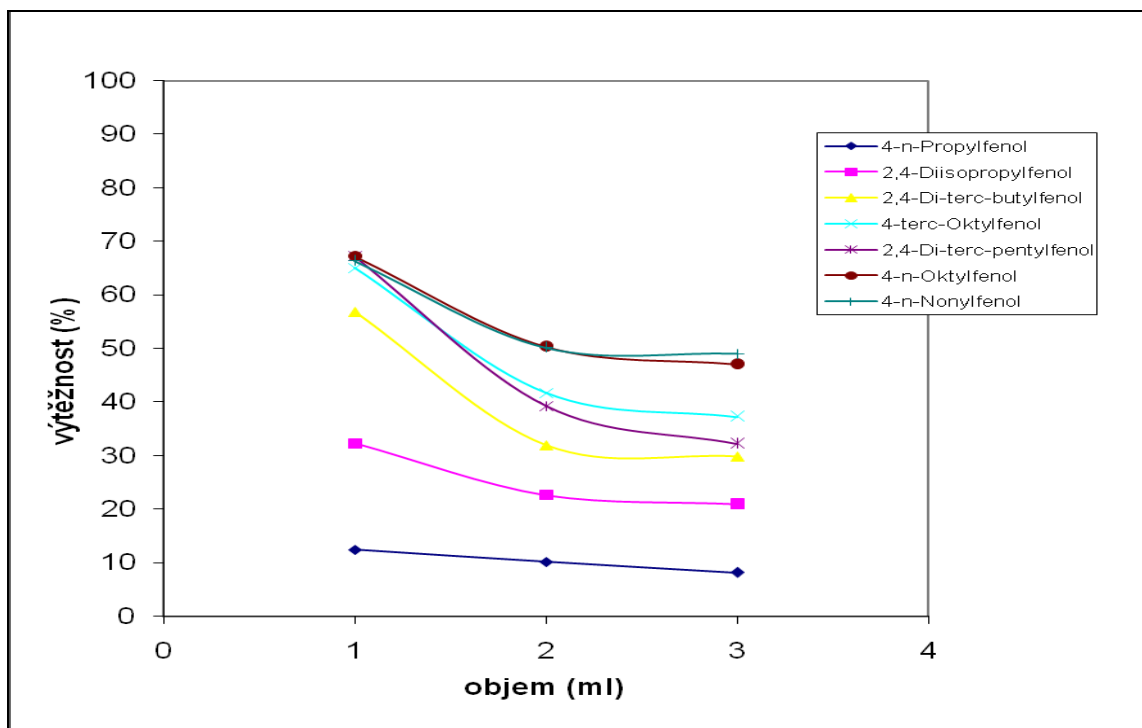
Následují grafy, které znázorňují průběhy závislosti výtěžnosti na optimalizovaném parametru pro Chromosorb 103, Chezacarb B a poté Rudex. Z průběhů závislostí výtěžností extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce a době statické eluce viz grafy č.1,2,5,6,9,10 je patrné, že křivky pro jednotlivé alkylfenoly mají maxima. To je způsobeno tím, že sorpce a eluce jsou zároveň probíhající procesy, které si konkurují.



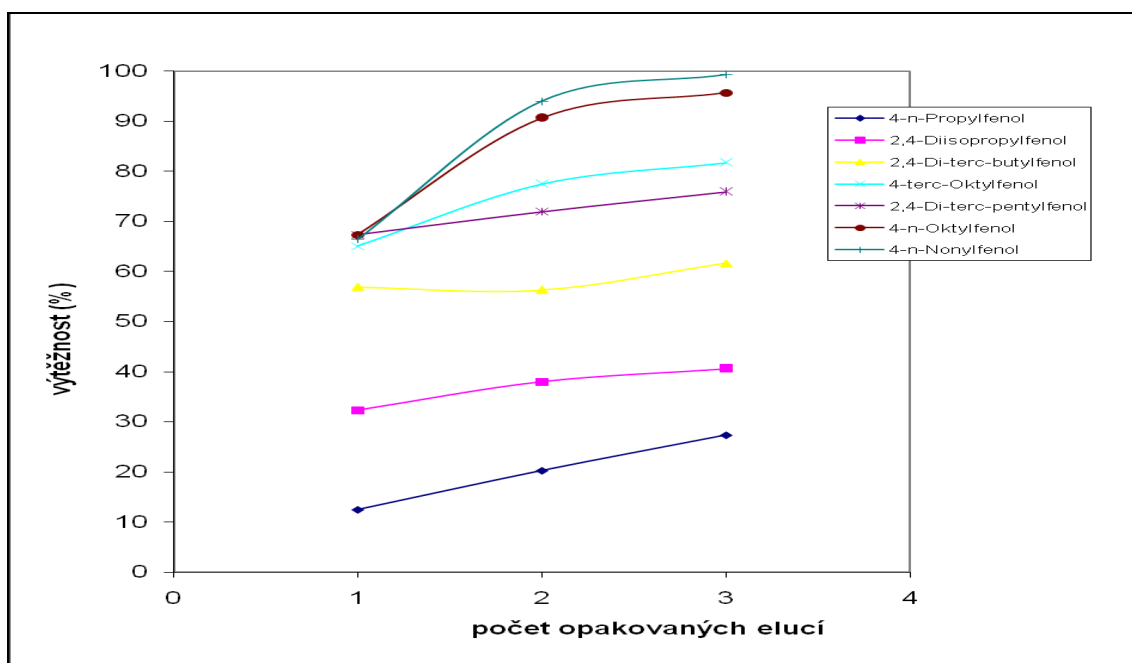
Graf č.9. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103. Doba statické eluce methanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1ml, počet opakovaných elucí – 1x.



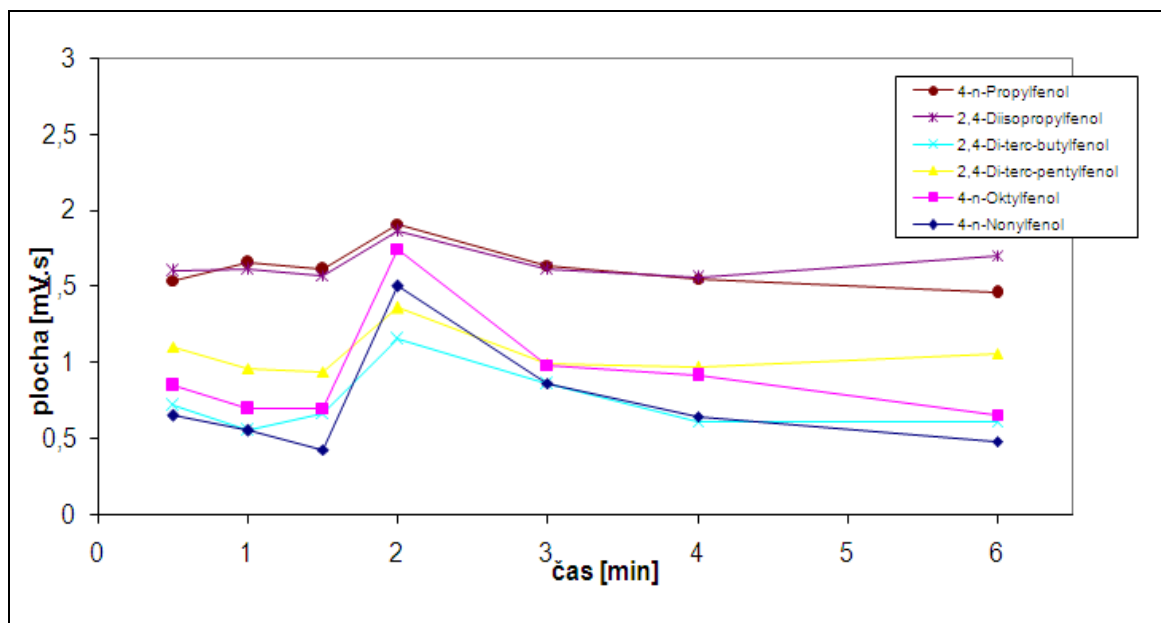
Graf č.10. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce methanolem na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103. Doba sorpce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



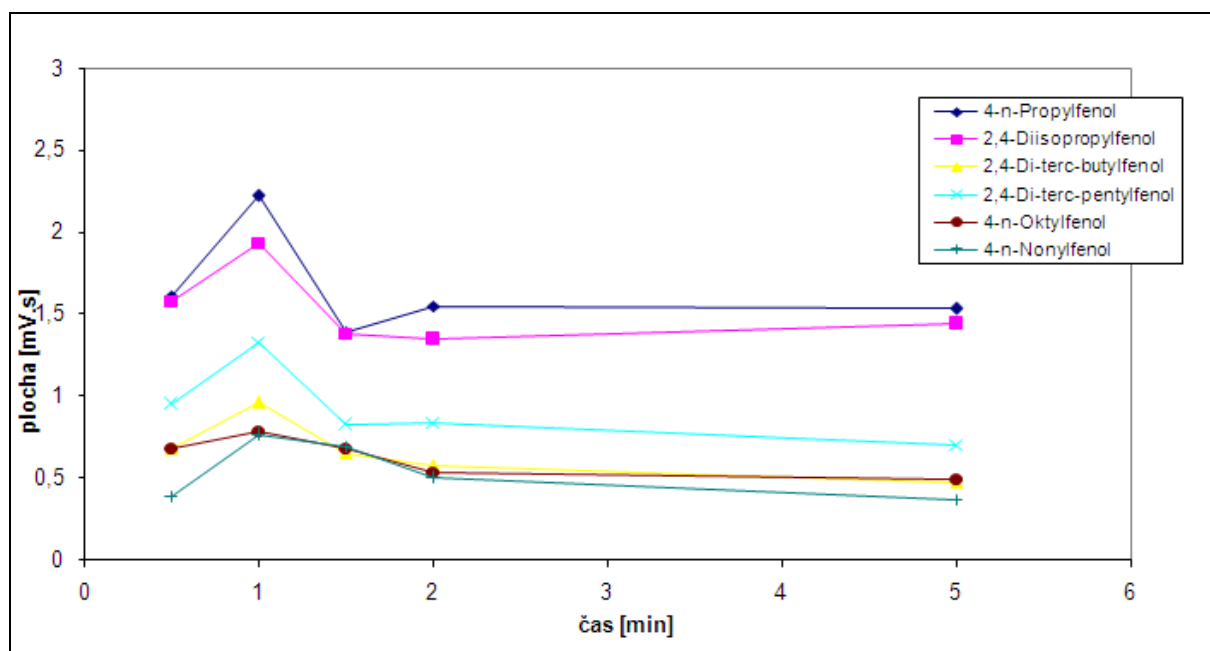
Graf č.11. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství elučního rozpouštědla na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103 . Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce methanolem – 1 min, počet opakovaných elucí – 1x.



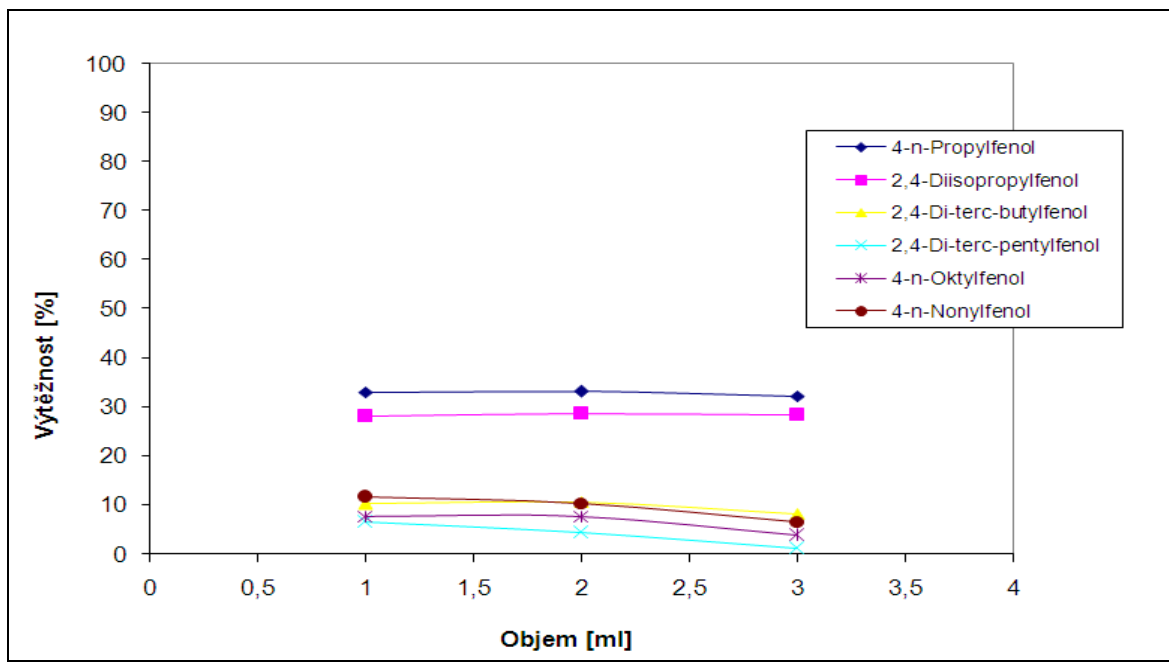
Graf č.12. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí 1 ml methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce methanolem – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



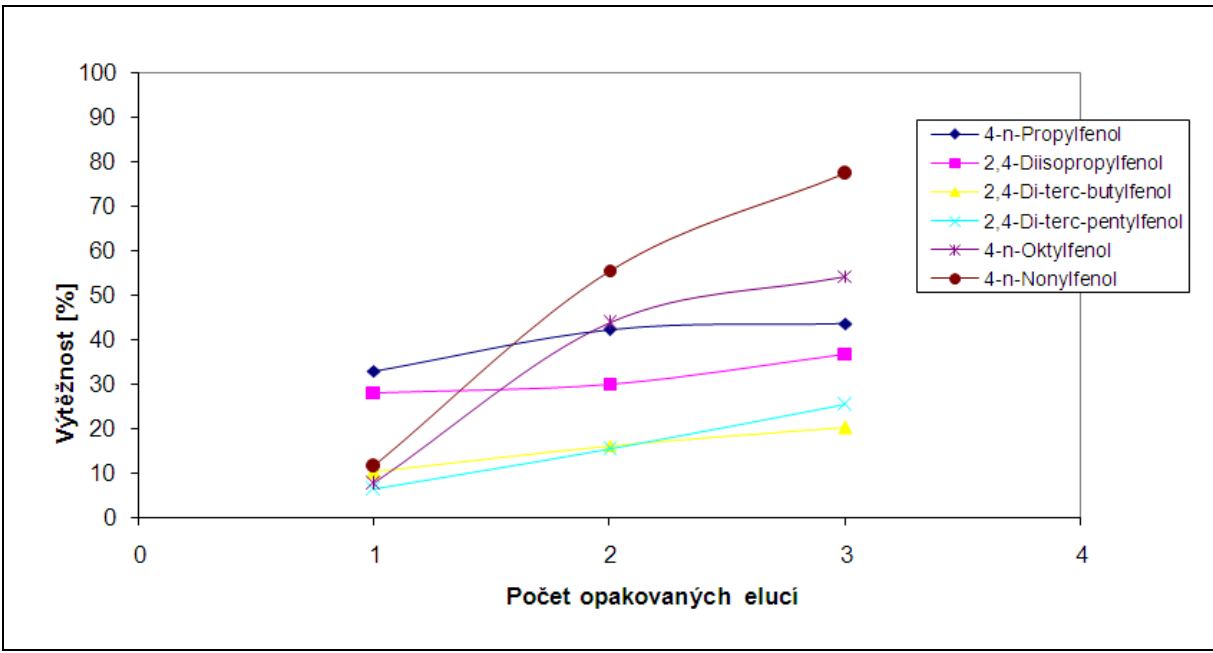
Graf č.1. Závislost plochy píků modelové směsi alkylfenolů při extrakci z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném aktivním uhlí Chezacarb typu B. Doba statické eluce methanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



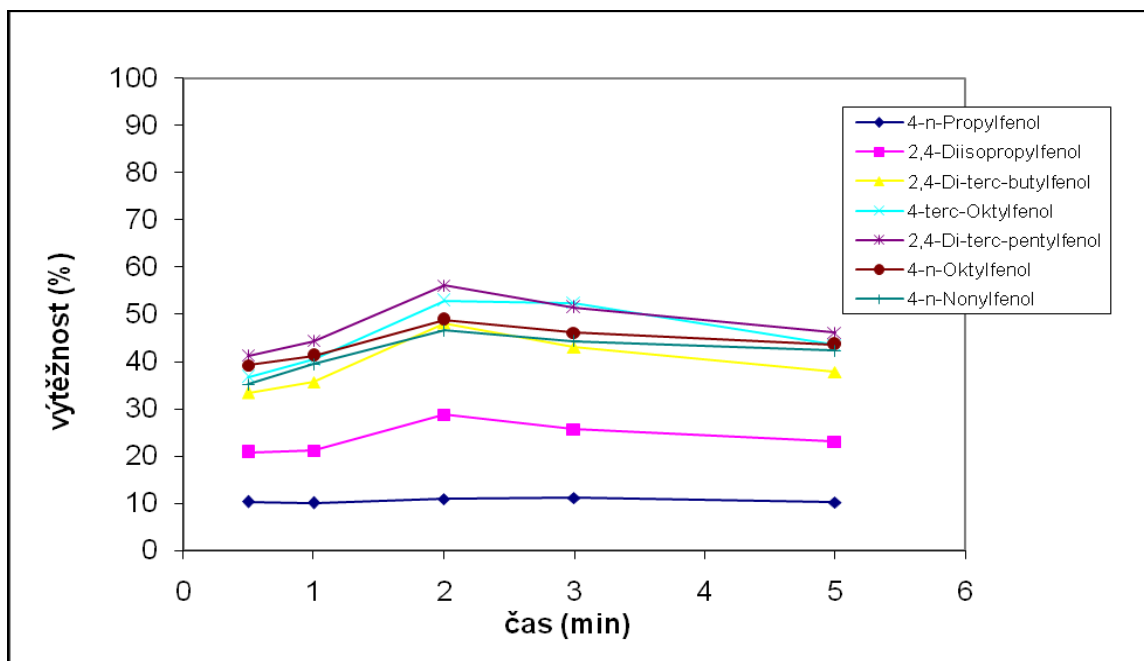
Graf č.2. Závislost plochy píků modelové směsi alkylfenolů při extrakci z vody na době statické eluce methanolem na magneticky modifikovaném aktivním uhlí Chezacarb typu B. Doba sorpce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



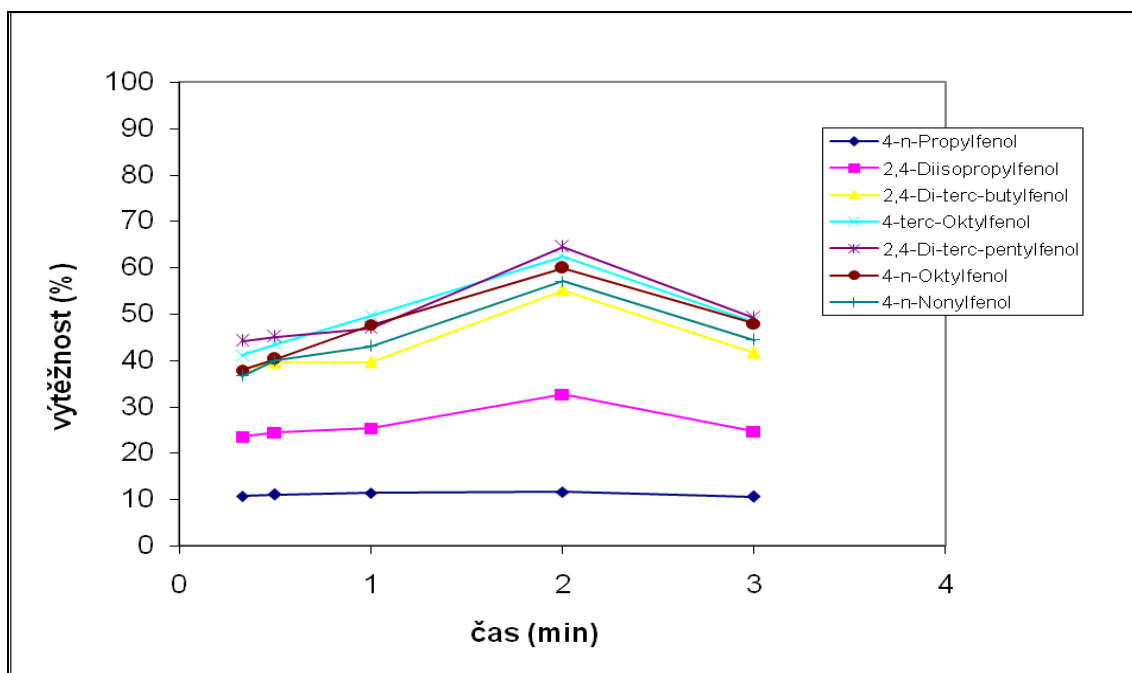
Graf č.3. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylyfenolů z vody na množství elučního rozpouštědla na magneticky modifikovaném aktivním uhlí Chezacarb typu B. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce methanolem – 1 min, počet opakovaných elucí – 1x.



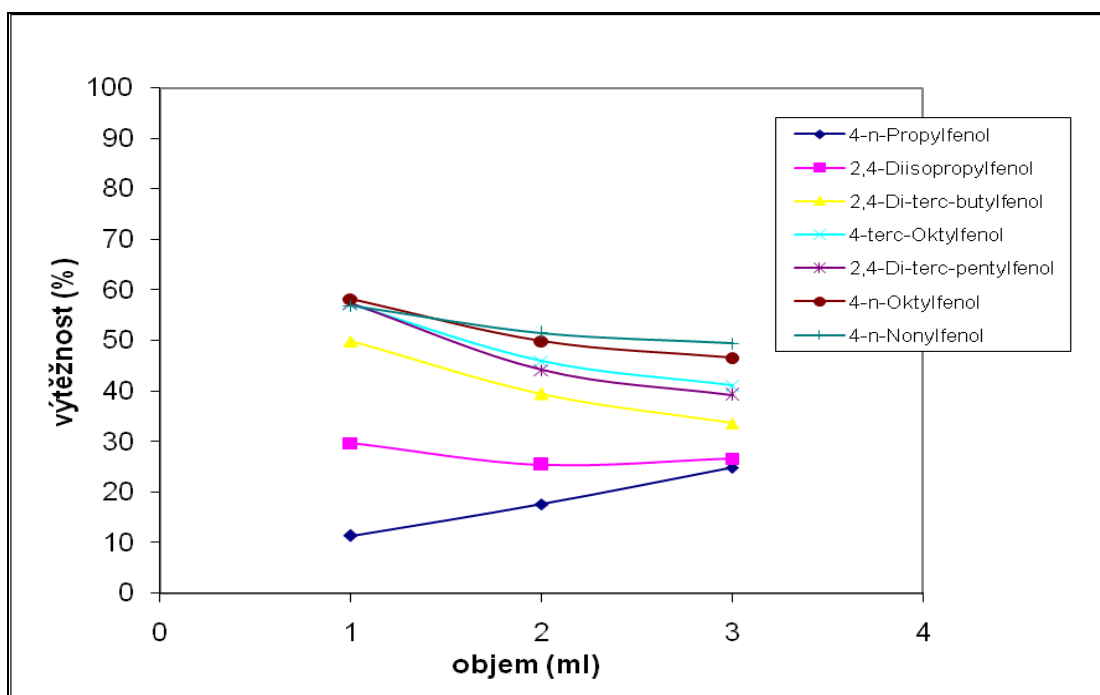
Graf č.4. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylyfenolů z vody na počtu opakovaných elucí 1 ml methanolu na magneticky modifikovaném aktivním uhlí Chezacarb B. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce methanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



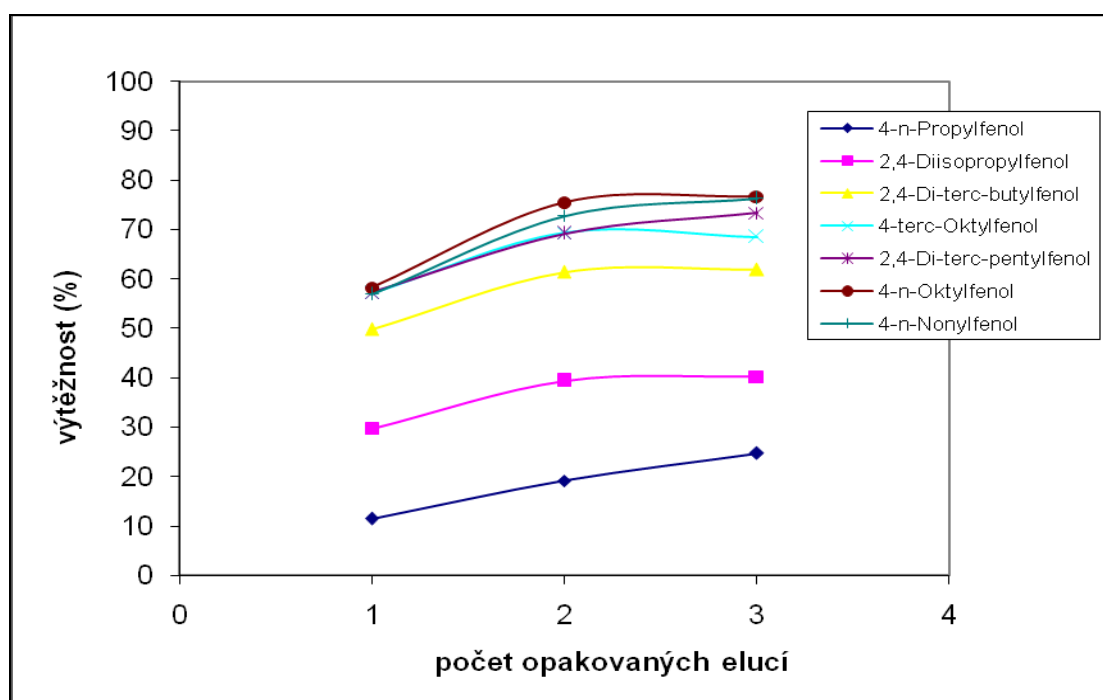
Graf č.5. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex. Doba statické eluce methanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1ml, počet opakovaných elucí – 1x.



Graf č.6. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce methanolem na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex. Doba sorpce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



Graf č.7. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství elučního rozpouštědla na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex . Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce methanolem – 2 min, počet opakovaných elucí – 1x.



Graf č.8. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí 1 ml methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce methanolem – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

3.1.2 Přehled výsledků z optimalizace extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody dalšími magneticky modifikovanými sorbenty

Následující tabulky obsahují nalezené optimální hodnoty doby sorpce, doby statické eluce, množství elučního rozpouštědla (methanolu) a počtu opakovaných elucí získané z příslušných grafických závislostí pro magnetické sorbenty Chromosorb 101 – 106, Porapak S, Tenax GC, Tenax GR, Tenax TA, PFO, aktivní uhlí Chezacarb S, Al₂O₃, DPA-6S a Tonsil.

Tab.IX. Nalezené optimální hodnoty extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty Chromosorb 101, 102, 104 a 105

Proměnná/Sorbent	Chromosorb 101	Chromosorb 102	Chromosorb 104	Chromosorb 105
doba sorpce (min)	0,5	2	0,5	6
doba statické eluce (min)	0,5	2	0,5	0,33
množství elučního rozpouštědla - MeOH (ml)	1	1	1	1
počet opakovaných elucí	3	3	3	3

Tab.X. Nalezené optimální hodnoty extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty DPA-6S, Chromosorb 106, Porapak S, Tonsil a Al₂O₃

Proměnná/Sorbent	DPA	Chromosorb 106	Porapak S	Tonsil	Al ₂ O ₃
doba sorpce (min)	1	3	3	1	1
doba statické eluce (min)	0,5	0,33	0,33	0,33	1
množství elučního rozpouštědla - MeOH (ml)	1	1	1	1	1
počet opakovaných elucí	3	3	3	3	3

Tab.XI. Nalezené optimální hodnoty extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty Tenax GC, Tenax TA, Tenax GR, PFO a aktivního uhlí Chezacarb typu S

Proměnná/Sorbent	Tenax GC	Tenax GR	Tenax TA	PFO	Chezacarb S
doba sorpce (min)	3	3	2	6	1,5
Doba statické eluce (min)	2	2	0,33	3	0,5
množství elučního rozpouštědla – MeOH (ml)	1	1	1	1	1
počet opakovaných elucí	3	3	3	3	3

Z uvedených tabulek je na první pohled patrné hlavně to, že optimální množství elučního rozpouštědla a počet opakovaných elucí je pro všechny magneticky modifikované sorbenty

stejný, a to 1, resp. 3. Optimální doba sorpce a eluce byla u sorbentů odlišná. Doba sorpce se pohybovala mezi 0,5 a 6 minutami a doba eluce mezi 0,33 a 3 minutami. Z těchto faktů vyplývá, že optimalizovaný postup celé extrakce trvá kolem deseti minut.

3.1.3 Přehled výtěžností extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty za nalezených optimálních podmínek

Po zoptimalizování všech studovaných proměnných byly vypočteny výtěžnosti extrakce na všech magneticky modifikovaných sorbentech. Tyto hodnoty byly tedy dosaženy za optimální doby sorpce, eluce a po eluci 3 x 1 ml rozpouštědla.

RDS (n=3) pro výsledky uvedené v následujících tabulkách nebyla větší než 10%.

Tab.XII. Výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody v procentech za optimálních podmínek při použití magneticky modifikovaných sorbentů Chromosorb 101, 102 a 104

látku/sorbent	Chromosorb 101 (%)	Chromosorb 102 (%)	Chromosorb 104 (%)
4- <i>n</i> -Propylfenol	27	42	32
2,4-Diisopropylfenol	40	57	33
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	59	66	46
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	70	77	60
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	68	70	55
4- <i>n</i> -Oktylfenol	77	71	58
4- <i>n</i> -Nonylfenol	76	71	57

Tab.XIII. Výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů v procentech za optimálních podmínek při použití magneticky modifikovaných sorbentů Chromosorb 105, Chromosorb 106, Porapak S a Tonsil

látku/sorbent	Chromosorb 105 (%)	Chromosorb 106 (%)	Porapak S (%)	Tonsil (%)
4- <i>n</i> -Propylfenol	49	47	70	25
2,4-Diisopropylfenol	64	59	63	25
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	70	46	59	32
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	82	63	56	43
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	77	45	45	41
4- <i>n</i> -Oktylfenol	92	56	65	49
4- <i>n</i> -Nonylfenol	97	77	70	49

Tab.XIV. Výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů v procentech za optimálních podmínek při použití magneticky modifikovaných sorbentů PFO, DPA, Al₂O₃ a aktivního uhlí Chezacarb typu S

látka/sorbent	PFO (%)	DPA (%)	Al ₂ O ₃ (%)	Chezacarb S (%)
4- <i>n</i> -Propylfenol	49	19	19	36
2,4-Diisopropylfenol	67	47	52	71
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	82	58	69	83
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	xxx	64	76	xxx
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	93	59	75	84
4- <i>n</i> -Oktylfenol	94	73	86	91
4- <i>n</i> -Nonylfenol	91	73	84	86

Tab.XV. Výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů v procentech za optimálních podmínek při použití magneticky modifikovaných sorbentů Tenax GR, Tenax GC, Tenax TA

látka/sorbent	Tenax GR (%)	Tenax GC (%)	Tenax TA (%)
4- <i>n</i> -Propylfenol	10	15	15
2,4-Diisopropylfenol	42	39	32
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	57	52	49
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	64	60	56
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	64	56	57
4- <i>n</i> -Oktylfenol	68	61	65
4- <i>n</i> -Nonylfenol	63	58	65

Ze získaných výsledků vyplývá, že výtěžnost závisí za prvé na typu sorbentu, kde nejvyšší výtěžnosti pro alkylfenoly poskytovaly magneticky modifikované Chromosorby 103 a 105, ale také magnetický modifikovaný PFO a Chezacarby S a B. Za druhé výtěžnost závisí na chemické struktuře extrahované látky. Výtěžnost extrakce 4-propylfenolu je malá, ale pro alkylfenoly s delším alkylovým řetězcem a větším počtem atomů uhlíku, jako je *n*-oktyl nebo *n*-nonyl, je vyšší. Výtěžnost extrakce také závisí na rozvětvenosti alkylového řetězce a na počtu alkylů. Vyšší výtěžnost byla zjištěna pro alkylfenoly s jedním rozvětveným alkylem ve srovnání s di-alkylfenoly s kratšími řetězci o stejném počtu atomů uhlíku (např. 4-*terc*-oktylfenol a 2,4-di-*terc*-butylfenol). U 2,4-di-*terc*-alkylfenolů roste výtěžnost extrakce se stoupajícím počtem atomů uhlíku v alkylech.

3.2 Porovnání výsledků kapalinové extrakce s extrakcí magneticky modifikovanými sorbenty

Byly stanoveny výtěžnosti extrakce technické směsi NP, NP1EO a NP2EO z destilované vody a vodovodní vody. Toto bylo provedeno kvůli porovnání výtěžnosti extrakce z různých matric. Pro extrakci technické směsi NP byl použit magneticky modifikovaný Chromosorb 103 a pro extrakci NP1EO a NP2EO magneticky modifikovaný Chezacarb B.

Tab.XVI. Výtěžnosti extrakce magnetickou tuhou fází a rozpouštědlové extrakce, RSD (n=3) pro technickou směs nonylfenolů s magneticky modifikovaným Chromosorbem 103 a pro nonylfenolmono- a diethoxyláty s magneticky modifikovaným Chezacarbem B z destilované a vodovodní vody

Extrakční technika:	MSPE	Destilovaná voda		Vodovodní voda	
látka	c (µg/10ml)	výtěžnost(%)	RSD (%)	výtěžnost (%)	RSD (%)
NP (tech.)	11	96.0	6,6	93,2	4,3
NP1EO	10	98.3	4,3	94.5	5,0
NP2EO	10.5	98.8	6,8	98.1	7,1
Extrakční technika:	LLE	Destilovaná voda		Vodovodní voda	
látka	c (µg/10ml)	výtěžnost (%)	RSD (%)	výtěžnost (%)	RSD (%)
NP (tech.)	11	87,7	7,8	87,9	10,1
NP1EO	10	94,8	2,7	95,7	9,9
NP2EO	10	93.2	9,7	94.2	8,6

Nižší výtěžnost extrakce v obou případech je u technické směsi NP způsobena minimální přítomností 4-*n*-nonylfenolu ve směsi, zatímco rozvětvené izomery nonylfenolu tvoří převážnou část směsi.

Pro porovnání výtěžnosti extrakce obou metod, tj. MSPE a LLE na praktických vzorcích byla vybrána sada vzorků vodné fáze z hodnocení biologické rozložitelnosti oxyethylenovaných 4-nonylfenolů. Oběma metodami byly extrahovány vzorky vodné fáze po testování biologické rozložitelnosti 4-NP, 4-NP15EO + 4-*n*-NP3EO a 4-NP15EO + 4-*n*-NP3EC. Při stanovení NP ve vzorcích byl použit magnetický Chromosorb 103 a při stanovení NP1EO ve vzorcích bylo použito magnetické uhlí Chezacarb B. Jako extrakční rozpouštědlo při kapalinové extrakci byl použit toluen. Výsledky ze studia extrakcí oxyethylenovaných nonylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty byly publikovány v pracích Č2, Č5, Č6, Č7, S1, S2, K2, P2, P10 (viz kapitola 6. Přehled publikační činnosti).

Tab.XVII. Porovnání stanovení obsahu NP ve vzorcích filtrátů po testování biologické rozložitelnosti extrakcí magnetickou tuhou fází a kapalinovou extrakcí

analyzovaná látka	magneticky	rozpouštědlem
	obsah NP v $\mu\text{g.l}^{-1}$	
NP15EO + NP3EO	6,4	7
NP15EO + NP3EC	6,2	6,7
NP1EO	6,2	6,3

Tab.XVIII. Porovnání stanovení obsahu NP1EO ve vzorcích filtrátů po testování biologické rozložitelnosti extrakcí magnetickou tuhou fází a kapalinovou extrakcí

analyzovaná látka	magneticky	rozpouštědlem
	obsah NP1EO v $\mu\text{g.l}^{-1}$	
NP15EO + NP3EO	1,3	1,7
NP15EO + NP3EC	1,2	1,6
NP1EO	1	1,1

Z těchto tabulek je patrné, že výsledky MSPE a LLE jsou srovnatelné.

3.3 Biologická rozložitelnost oxyethylenovaných 4-nonylfenolů

Prvním krokem při studování dané problematiky bylo provedení Zahn-Wellensova testu na biologickou rozložitelnost (ČSN EN 29888). Druhým provedeným testem byl respirometrický test dle ČSN EN 29408. Tyto testy byly prováděny na spolupracujícím pracovišti na Ústavu technologie vody a prostředí na VŠCHT Praha. Testovány byly čistý 4-*n*-NP(0-3)EO, NP9EO, NP10EO, NP15EO a také čistý 4-*n*-NP(1-3)EC a NP15EO s přídatkem 4-*n*-NP(1-3)EO nebo 4-*n*-NP(1-3)EC.

Po provedení testů na biologickou rozložitelnost byly chromatografické analýze podrobeny extrakty z vodných filtrátů reakčních směsí, methanolové oplachy reakčních nádob a extrakty z filtrů s biomasou. Před vlastní chromatografickou analýzou bylo potřeba extrakty zakonzentrovat. Jako extrakční činidlo byl použit toluen a bylo postupováno jak je popsáno v kapitole 2.4.2. Pro extrakci byla také použita metoda MSPE dle postupu uvedeného v kapitole 2.4.4. Nakonec byly extrakty podrobeny chromatografické analýze.

Z obsahů jednotlivých analytů po a před testem biologické rozložitelnosti byla vyhodnocena primární biologická rozložitelnost a z obsahů celkového uhlíku v rozpuštěných organických látkách (DOC) po a před testem biologické rozložitelnosti byla vyhodnocena úplná biologická rozložitelnost.

Z výsledků analýz bylo vidět, že nejvyšší obsah nerozložených látek se nachází ve filtrech

s biomasou.

Dále byl potvrzen předpoklad o postupném odbourávání oxyethylenových jednotek a o snadné rozložitelnosti 4-nonylfenolů s vyšším počtem oxyethylenových jednotek a naopak větší rezistenci nízkooxyethylenovaných 4-nonylfenolů.

Z experimentálně získaných hodnot jasně vyplynulo, že primární biologická rozložitelnost čistých 4-*n*-NP(1-3)EO byla vysoká, tak jak bylo předpokládáno a dosahovala více jak 99 %. Též primární biologická rozložitelnost čistých 4-*n*-NP(1-3)EC, což jsou intermediáty při rozkladu 4-*n*-NP_nEO, byla vysoká a činila více jak 95 %. Daleko komplikovanější se ukázala úplná biologická rozložitelnost. Podle získaných výsledků se obstojně rozkládal 4-*n*-NP1EO a ještě přijatelně z něj vznikající intermediát 4-*n*-NP1EC. Rozklad ostatních látek, ať už jde o 4-*n*-NP2EO, 4-*n*-NP3EO a nebo intermediáty jejich rozkladu, t.j. odpovídající monokarboxylové kyseliny byl neuspokojivý. Jasně se ukázala stálost některých intermediátů biologického rozkladu NP_nEO ve vodném prostředí. Dále byl opět potvrzen fakt, že i u těchto látek bylo největší množství nerozložených látek ve filtrech s biomasou.

Dále byly stanovovány rezidua 4-nonylfenolů po testování jejich biologické rozložitelnosti. Jedná se o technické směsi 4-NP od výrobců Sloveca, Riedel de Haen a Sigma Aldrich (chromatogramy jsou znázorněny na Obr. 3 až 5 v Příloze). Výsledky ze studia biologické rozložitelnosti nonylfenolů byly uvedeny v pracích S1, S4, K4, P1 (viz kapitola 6. Přehled publikační činnosti). Z výsledků vyplynulo, že nejvyšší obsah nerozložených látek se opět nachází v biomase a množství nerozloženého technického 4-nonylfenolu závisí na jeho složení.

Nakonec byly analyzovány vzorky reakční směsi po testování biologické rozložitelnosti NP15EO s přidanými čistými 4-*n*-NP(1-3)EO nebo 4-*n*-NP(1-3)EC. Stanovována byla rezidua 4-*n*-NP(1-3)EO a 4-*n*-NP(1-3)EC. Některé obsahy stanovovaných látek byly pod mezí detekce (= pod MD), která činila 0,1 μg.l⁻¹.

Z těchto výsledků vyplynulo, že nejvyšší obsah nerozložených látek se nachází opět ve filtrech s biomasou, ale značné množství je i ve filtrátech reakčních směsí. Bylo zjištěno, že přítomnost NP15EO a z něj vznikajících metabolitů nemá vliv na biologickou rozložitelnost níže oxyethylenovaných 4-*n*-nonylfenolů a jím odpovídajících čistých karboxylových kyselin.

3.4 Stanovení studovaných metabolitů v povrchových vodách

Poté následovalo stanovení obsahu NP, NP1EO a NP2EO ve vzorcích povrchových vod, a to ve vodě z řeky Labe a z přehradní nádrže Rozkoš. Vzorky byly extrahovány jak pomocí MSPE, tak LLE dle již dříve uvedených postupů. Výsledky ze studia extrakcí studovaných analytů z vody magneticky modifikovanými sorbenty byly publikovány v pracích Č5, S6, K7, P10 (viz kapitola 6. Přehled publikační činnosti).

TabXIX. Obsah nonylfenolů a 4-nonylfenolmono- a 4-nonylfenoldioxyethylenátů v $\mu\text{g.l}^{-1}$ ve vzorcích vody z řeky Labe a přehradní nádrže Rozkoš a hodnoty RSD (n=3)

Typ extrakce	MSPE			LLE		
	Tech. NP (RSD)	NP1EO (RSD)	NP2EO (RSD)	Tech. NP (RSD)	NP1EO (RSD)	NP2EO (RSD)
Rozkoš	LOD	1,5 (0,021)	1,9 (0,024)	LOD	1,5 (0,058)	1,8 (0,026)
Labe	LOD	2,2 (0,032)	LOD	LOD	2,1 (0,057)	LOD

Jak můžeme vidět v tabulce bylo množství nonylfenolů v povrchových vodách pod mezí detekce, avšak nonylfenolmono- a nonylfenoldioxyethylenáty byly přítomny. Z tabulky je také patrné, že MSPE může nahradit LLE, protože výsledky obou metod jsou srovnatelné. Navíc MSPE byla rychlejší a méně nákladná než LLE.

4. Závěr

Byla studována možnost magnetické modifikace několika desítek přístupných sypkých, velmi jemně zrnitých materiálů, které se používají jako separační náplně chromatografických kolon (kapalinová i plynová chromatografie) a kolonek SPE, jako adsorbenty pro odbarvování a filtraci, adsorbenty sloužící k předčištění vzorků před analýzami a nebo k záchytu kontaminantů z vody a ovzduší a adsorbentů používaných při ropných haváriích.

Při přípravě magneticky modifikovaných adsorbentů byl volen postup podle typu výchozího materiálu.

Vhodné magneticky modifikované adsorbenty byly použity ke studiu extrakce vybraných alkylfenolů, níže oxyethylenovaných technických 4-nonylfenolů (NP1EO, NP2EO, NP3EO), čistých 4-*n*-nonylfenolů (4-*n*-NP1EO, 4-*n*-NP2EO, 4-*n*-NP3EO) a jím odpovídajícím karboxylových kyselin (4-*n*-NP1EC, 4-*n*-NP2EC, 4-*n*-NP3EC) a již dříve k extrakci středně a výše oxyethylenovaných 4-nonylfenolů^{č6, č7} a také oxyethylenovaných alifatických alkoholů^{č6} z vodného prostředí. Ze skupiny alkylfenolů to bylo sedm látek s různou délkou a rozvětvením alkylového řetězce, z nichž některé jsou i v technické směsi 4-nonylfenolů.

Nejdříve byly prováděny extrakce magneticky modifikovaným sorbentem z modelových vodných vzorků. Byly studovány optimální podmínky celé extrakční procedury jako jsou doba sorpce, doba eluce zachycených analytů, počet opakovaných elucí a množství elučního rozpouštědla, kterým byl methanol. Ze širokého spektra magneticky modifikovaných sorbentů byly ty, které již při zahájení optimalizace vykazovaly nižší účinnost sorpce pro zadané třídy organických látek vyřazeny. Jednotlivé optimalizační kroky byly posuzovány podle výtěžnosti, kdy optimalizovaný parametr se měnil a ostatní byly konstantní. Za nalezených optimálních a validovaných podmínek byly vybranými sorbenty extrahovány vodné fáze reakční směsi po testování biologické rozložitelnosti a vzorky povrchových vod. K analýzám získaných extraktů studovaných tříd látek byla použita kapilární plynová chromatografie. Výtěžnosti celého obohacovacího procesu, prováděného extrakcí magneticky modifikovaným sorbentem, byly porovnávány s výtěžnostmi klasické rozpouštědlové extrakce.

Optimalizované hodnoty doby sorpce se pohybovaly od 0,5 do 6 min, doby eluce od 0,33 do 3 min, nejoptimálnější se jeví trojnásobné opakování eluce s 1 ml rozpouštědla.

Ze získaných výsledků vyplývá, že výtěžnost závisí:

- 1) na typu použitého sorbentu, kde nejvyšší výtěžnosti pro alkylfenoly poskytovaly magneticky modifikované Chromosorby 103 a 105 a také magneticky modifikovaný PFO a Chezacarby S a B, u nichž dosahují výtěžnosti až 99 %.
- 2) na chemické struktuře extrahované látky. Výtěžnost extrakce alkylfenolů s krátkým alkylovým řetězcem jako je např. 4-propylfenol se pohybuje jen v rozmezí 10 – 70 %, ale pro alkylfenoly s delším alkylovým řetězcem a větším počtem atomů uhlíku, jako je *n*-oktyl nebo *n*-nonyl, to bylo až 99 %.
- 3) na rozvětvenosti alkylového řetězce a na počtu alkylů. Vyšší výtěžnost byla zjištěna pro alkylfenoly s jedním dlouhým rozvětveným alkylem ve srovnání s di-alkylfenoly s kratšími řetězci o stejném počtu atomů uhlíku (např. 4-*terc*-oktylfenol a 2,4-di-*terc*-butylfenol). U 2,4-di-*terc*-alkylfenolů roste výtěžnost extrakce se stoupajícím počtem atomů uhlíku v alkylech.

Vhodné magneticky modifikované sorbenty byly za zjištěných optimálních podmínek využity při extrakci velmi důležitých metabolitů, a to NP, NP1EO a NP2EO jakožto biodegradačních produktů oxyethylenovaných 4-nonylfenolů z reakčních směsí po testování biologické rozložitelnosti a z povrchových vod řeky Labe a přehradní nádrže Rozkoš.

Vypracovaná extrakční metoda nám značně usnadnila, urychlila a zlevnila stanovení významných metabolitů ve vodné fázi po provedených testech na biologickou rozložitelnost. Tyto testy bylo nutné provést v rámci řešení našeho projektu týkajícího se stálosti oxyethylenovaného 4-nonylfenolu a jeho metabolitů ve vodném prostředí. Umožnila nám provést analýzy desítek vzorků vod odebraných z vodné fáze po testech na biologickou rozložitelnost, které by ve většině případů při LLE tvořily stálé emulze. Používaná metoda přispěla k získání potřebných informací o stále diskutované problematice o vhodnosti požívání oxyethylenovaného 4-nonylfenolu v praxi.

Ze získaných poznatků jasně vyplynulo, že pro prekoncentraci organických látek z vody, zejména z vod z technologických procesů, z odpadních vod, z povrchových vod, z vodné fáze z testování biologické rozložitelnosti aj., je možné s výhodou použít extrakci magnetickým tuhým sorbentem. Umožňuje-li citlivá analytická metoda použít k analýze jen 10 ml vody, pak máme k dispozici prekoncentrační metodu nejen velmi rychlou a jednoduchou, ale také velmi levnou s minimem odpadů, protože potřebujeme jen 2 – 30 mg podle typu použitého adsorbentu a 3 ml rozpouštědla. V případě nezbytnosti provádět prekoncentraci z většího objemu vody, např. ze 100 ml a více, prodlužuje se jen doba extrakce adsorbentem. Tato doba je závislá na kvalitě míchání, které musí stále zajišťovat pohyb částic adsorbentu v celém

objemu vody. V tomto případě se doba extrakce prodlouží na 20 – 40 min a stává se limitujícím faktorem jinak rychlé metody prekoncentrace.

Řešení projektu jednoznačně ukázalo na široké možnosti využití MSPE při předkoncentraci organických kontaminantů v různých typech vzorků vod a na možnost, že MSPE se může stát alternativní metodou ke stávajícím.

5. Seznam použité literatury

- ¹ Blažej A.: *Tenzidy*, SNTL, Praha , 1977.
- ² Götte E.: *Fette-Seifen-Anstrichmittel* **62**, 789 (1960).
- ³ Wheeler, T. F., Heim, J. R., LaTorre, M. R., Janes, A. B.: *J. Chromatogr. Sci.*, **35**, 19 – 30 (1997).
- ⁴ Gundersen, J. L.: *J. Chromatogr. A*, **914**, 161 – 166 (2001).
- ⁵ Kim, Y. S., Katase T., Sekine S., Inoue T., Makino M., Uchiyama T., Fujimoto Y., Yamashita N.: *Chemosphere*, **54**, 1127 – 1134 (2004).
- ⁶ Ruß A., Vinken R., Ingolf Schuphan I., Schmidt B.: *Chemosphere*, **60**, 1624 – 1635 (2005).
- ⁷ Ferrara F., Fabietti F., Delise M., Funari E.: *Chemosphere*, **59**, 1145 (2005)
- ⁸ Thiele B., Gunter A., Schwuger M., J.: *Chem. Rev.*, **97**, 3247 – 3272 (1997).
- ⁹ Bester K., Theobalt N., Schroder H., F.: *Chemosphere*, **45**, 817 – 826 (2001).
- ¹⁰ Blackburn M. A., Waldock M. J.: *Wat. Res.*, **7**, 1623 – 1629 (1995).
- ¹¹ Azavedos D. A., Lacorte S., Viana P., Barcelo D.: *J. Braz. Chem. Soc.*, **12**, 532 – 537 (2001).
- ¹² Tsuda T., Suga K., Kaneda E., Ohsuga M.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **68**, 126 - 131 (2002)
- ¹³ Shao B., Hu J., Yang M., An W., Tao S.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **48**, 467 – 473 (2005)
- ¹⁴ Sabik H., Gagné F., Blaise C., Marcogliese D. J., Jeannot R.: *Chemosphere*, **51**, 349 – 356 (2003)
- ¹⁵ Kannan K., Keith, T. L., Naylor C. G., Staples C. A., Snyder S. A., Giesy J. P.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **44**, 77 – 82 (2003).
- ¹⁶ Pryor S. W., Hay A. G., Walker I. P.: *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 3678 - 3682 (2002).
- ¹⁷ ČSN 68 1140: *Metody zkoušení tenzidů a detergentů, všeobecná ustanovení* (1994).
- ¹⁸ McLeese D. W., Zitko V., Sergeant D. B., Burr ridge L., Metcalfe C. D.: *Chemosphere*, **10**, 723 (1981).
- ¹⁹ Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D.: *Molecular biology of cell*, Garland publishing Inc., New York (1983).
- ²⁰ Dodds E. C., Lawson W.: *Proc. Royal Soc. Lon. B.*, **125**, 222 (1938).
- ²¹ Mueller G., Kim U. H.: *Endocrin.*, **102**, 1429 (1978).
- ²² Soto A. M., Justicia H., Wray J. W., Sonnenschein C.: *Environ. Health Persp.*, **92**, 167

(1991).

²³ Jobling S., Sumpter J. P.: *Aquat. Toxicol.*, **27**, 361 (1993).

²⁴ White R., Jobling S., Hoare S. A., Sumpter J. P., Parker M. G.: *Endocrin.*, **135**, 175 (1994).

²⁵ Dorfman R. I., Dorfman A. S.: *Endocrinolog.*, **55**, 65 (1954).

²⁶ Hershberger L., Shipley E., Meyer R.: *Proceed. Soc. Exper. Biolog.*, **83**, 175 (1953).

²⁷ Van den Belt K., Berckmans P., Vangenechten C., Verheyen R., Witters H.: *Aquatic Toxicology*, **66**, 183 – 195 (2004).

²⁸ Shioji H., Tsunoi S., Kobayashi Y., Shigemori T., Ike M., Fujita M., Miyaji Y., Tanaka M.: *J. Health Sci.*, **52**, 132 – 141 (2006).

²⁹ Brix R., Hvd S., Carlsen L.: *Chemosphere*, **44**, 759 – 763 (2001).

³⁰ Ahel M., Giger W.: *Chemosphere*, **26**, 1471 - 1478 (1993).

³¹ Ahel M., Hršak D., Giger W.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **26**, 540 – 548 (1994).

³² Monzano M. A., Perales J. A., Sales D., Quiroga J. M.: *Water Research*, **33**, 2593 – 2600 (1999).

³³ Franska M., Franski R., Szymanski A., Lukaszewski Z.: *Water Research*, **37**, 1005 – 1014 (2003).

³⁴ Ahel M., Giger W., Schaffner Ch.: *Water Research*, **30**, 37 – 46 (1996).

³⁵ Planas C., Guadayol J. M., Droguet M., Escalas A., Rivera J., Caixach J.: *Water Research*, **36**, 982 – 988 (2002).

³⁶ Ahel M., McEvoy J., Giger W.: *Environmental Pollution*, **79**, 243 – 248 (1993).

³⁷ Ahel M., Giger W., Koch M.: *Water Research*, **28**, 1131 – 1142, (1994).

³⁸ Pitter P, Sýkora V. Kujalová (Ptáková) H.: *Sborník 12. Konference "Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním hospodářství"*, VÚRH Vodňany, 100 – 106 (2006).

³⁹ Yuan S. Y., Yu C. H., Chang B. V.: *Environmental Pollution*, **127**, 425 – 430 (2004).

⁴⁰ Planas C., Guadayol J. M., Droguet M., Escalas A., Rivera J, Caixach J.: *Water Research*, **23**, 756 – 762 (2000).

⁴⁰ Ptáková H., Sýkora V., Pitter P., Komárek K.: *Biodegradabilita tenzidů na bázi nonylfenolu. Sborník konference 36. Seminář o tenzidech a detergitech, Lázně Bohdaneč*, 77 – 86 (2003).

⁴² Ejlerstson J., Louisenilsson M., Kylin H., Bergman A., Karlson L., Oquist M., Svensson B. H.: *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 301 - 306 (1999).

⁴³ Ekelund R., Granmo A., Magnusson K., Berggren M., Bergman A.: *Environmental*

Pollution, **79**, 59 - 61 (1993).

⁴⁴ Naylor C. G., Staples C. A., Klecka G. M., Williams J. B., Varineau P. T., Cady C.: Arch. Environ. Contam. Toxicol., **51**, 11 – 20 (2006).

⁴⁵ Goel A., Muller M., Sharma M., Frimmel F. H.: Acta Hydrochim. Hydrobiol., **31**, 108 – 119 (2003).

⁴⁶ Hawrelak M., Bennett E., Metcalfe C.: Chemosphere, **39**, 745 - 752 (1999).

⁴⁷ Manzano M. A., Perales J. A., Sales D., Quiroga J. M.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., **61**, 489 - 496 (1998).

⁴⁸ Manzano M. A., Perales J. A., Sales D., Quiroga J. M.: Wat. Res. Vol., **33**, 2593 – 2600 (1999).

⁴⁹ Mann R. M., Body M. R.: Chemosphere, **41**, 1361 - 1369 (2000).

⁵⁰ ČSN EN 25667-1, Odběr vzorků – část 1: Pokyny pro návrh programu odběru vzorků, 1995.

⁵¹ ČSN EN 25667-2, Odběr vzorků – část 2: Pokyny pro způsoby odběru vzorků, 1995.

⁵² ČSN ISO 5667-4, Odběr vzorků – část 4: Pokyny pro odběr vzorků z vodních nádrží, 1994.

⁵³ ČSN ISO 5667-6, Odběr vzorků – část 6: Pokyny pro odběr vzorků z řek a potoků, 1994.

⁵⁴ ČSN EN ISO 5667-3, Odběr vzorků – část 3: Návod pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi, 1994.

⁵⁵ ČSN ISO 5667-14, Odběr vzorků – část 14: pokyny k zabezpečování jakosti odběru vzorků vod a manipulace s nimi, 2001.

⁵⁶ WickBold R.: Tenside Deterg., **9**, 173 (1972).

⁵⁷ Veith G. P., Kiwus L. M.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., **17**, 631 (1977).

⁵⁸ Giger W., Bruner P. H., Schaffner C.: Science, **225**, 623 (1981).

⁵⁹ Ahel M., Giger W.: Wat. Res., **28**, 1143 (1994).

⁶⁰ Ball H.A., Reinhard M., McCarty P.L.: Environ. Sci. Technol., **13**, 951 (1989).

⁶¹ Jones P., Nickless G.: J. Chromatogr. **156**, 87 (1978).

⁶² Ventura F., Caixach J, Espalder I.: Water Sci. Technol. **25**, 257 (1989)

⁶³ Crescenzi C. a kol: Anal. Chem., **67**, 1797 (1995)

⁶⁴ Ding W. H., Chen C. T. :J. Chromatogr. A, **862**, 113 (1999).

⁶⁵ Di Corcia A., Samperi R., Marcomini A.: Environ. Sci. Technol., **28**, 850 (1994).

⁶⁶ Marcomini A., Di Corcia A., Samperi R., Capri S.: J. Chromatogr., **644**, 59 (1993).

⁶⁷ Kubeck E., Naylor C. G.: J. Amer. Oil Chem. Soc., **67**, 400 (1990).

⁶⁸ Kristad A. M., Lundanes E., Greibrokk, T.: Chromatographia, **48**, 707 (1998).

⁶⁹ Shaffer C.B., Critchfield F.H.: Anal. Chem. **19**, 32 (1947).

- ⁷⁰ Stevenson D.G.: *Analyst* **79**, 504 (1954).
- ⁷¹ Oliver J., Preston C.: *Nature* **164**, 242 (1949).
- ⁷² Zhu Z., Li Z., Hao Z., Chen J.: *Water Research*, **37**, 4506–4512 (2003).
- ⁷³ Yokoyama Y., Okabe T., Kubo H., Sato H.: *Microchim Acta* **149**, 287–293 (2005).
- ⁷⁴ Baleux B.: *C. R. Acad. Sci. Paris*, **274**, 1617 (1972).
- ⁷⁵ Boyd-Boland A. A., Eckert J. M.: *Anal. Chim. Acta*, **271**, 311–314 (1993).
- ⁷⁶ Vavrouch Z.: *Sborník konference Hydrochémia '84*, 255–273, Bratislava 1984.
- ⁷⁷ Jurado E. a kol.: *Tenside Surf. Det.*, **39**, 154 – 159 (2002).
- ⁷⁸ Kujalová H., Sýkora V., Husarová M.: *Sborník XXXVI. Konference Hydrochémia 2004*, 173 - 183 (2004).
- ⁷⁹ Brown E.G., Hayes T.J.: *Analyst* **80**, 755 (1955).
- ⁸⁰ Pitter P., Šulcová–Banovičová J.: *Sborník VŠCHT Praha F24, VŠCHT Praha 1981*.
- ⁸¹ Morgan D.J.: *Analyst* **87**, 233 (1962).
- ⁸² Milwidski B.M.: *Analyst* **94**, 377 (1969).
- ⁸³ Favretto L., Tunis F.: *Analyst* **101**, 198 (1976).
- ⁸⁴ AWWA, WEF, APHA: *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 20.vyd. (1998).
- ⁸⁵ Wickbold R.: *Vom Wasser*, **33**, 229 (1966).
- ⁸⁶ Waters J., Longman G. F.: *Anal. Chim. Acta*, **93**, 341-344 (1977).
- ⁸⁷ Fendinger N. J., Begley W. M., McAvoy D. C., Echhoff W. S.: *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 856 (1995).
- ⁸⁸ Espejo R., Valter K., Simona M., Janin Y., Arrizabalaga P.: *J. Chromatogr. A*, **976**, 335–343 (2002).
- ⁸⁹ Stancher B. B., Favretto, G. L., Favretto, L.: *J. Chromatogr.*, **111**, 459 (1975).
- ⁹⁰ Stephanou E., Reinhard M., Balc H. A.: *Biomed. Environ. Mass Specrom.*, **15**, 275 (1988).
- ⁹¹ Stephanou E., Giger W.: *Environ. Sci. Technol.*, **16**, 800 (1982).
- ⁹² Ayorinde F. O., Elhilo E.: *Rapid Commun. Mass spectrom.*, **13**, 2166 (1999).
- ⁹³ Ding W. H., Tzing S. H.: *J. Chromatogr. A*, **824**, 79–90 (1998).
- ⁹⁴ Wahlberg C., Renberg L., Wideqvist U.: *Chemosphere*, **20**, 179 (1990).
- ⁹⁵ Valero F., Alcaraz R., Rodriguez J. J.; Carnicero, M.: *Eur. Water Manage* **1**, 41 (1998).
- ⁹⁶ Ding W. H., Fann J. C. H.: *J. Chromatogr. A*, **866**, 79–85 (2000).
- ⁹⁷ Chalaux N., Bayona J. M., Albaigés J.: *J. Chromatogr.*, **686**, 275 (1994).
- ⁹⁸ Hawrelak M., Bennett E., Metcalfe C.: *Chemosphere*, **39**, 745 (1999).
- ⁹⁹ Reinhard M., Goodman N.: *Environ. Sci. Technol.*, **16**, 351 (1982).

- ¹⁰⁰ Kawaguchi M., Inoue K., Yoshimura M., Ito R., Sakui N., Nakazawa H.: *Anal. Chim. Acta*, **505**, 217–222 (2004).
- ¹⁰¹ Potter T.L. a kol.: *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 113 (1999).
- ¹⁰² Braun P., Moeder M., Schrader S., Popp P., Kusch P., Engewald W.: *J. Chromatogr. A*, **988**, 41–51 (2003).
- ¹⁰³ Harold A. B., Reinhard M., McCarty P. L.: *Environ. Sci. Technol.*, **23**, 951(1989).
- ¹⁰⁴ Moeder M., Martin C., Harynuk J., Gorecki T., Vinken R., Corvini P. F. X.: *J. Chromatogr. A*, **1102**, 245–255 (2006).
- ¹⁰⁵ Jandera P., Bunčėková S.: Sborník „XXXIII Seminář o tenzidech a detergentech“, str.77, Lázně Bohdaneč (1999).
- ¹⁰⁶ Szymanowski J., Miszkiewicz W., Hreczuch W., Sobczynska A.: *Chromatographia*, **51**, 95 (2000).
- ¹⁰⁷ Ahel M., Giger W.: *Anal. Chem.*, **57**, 1577 (1985).
- ¹⁰⁸ Ahel M., Giger W.: *Anal. Chem.*, **57**, 2584 (1985).
- ¹⁰⁹ Fytianos K., Pegiadou S., Raikos N., Eleftheriadis I., Tsoukali H.: *Chemosphere*, **35**, 1423 – 1429 (1997).
- ¹¹⁰ Aranda R, Burk R. C.: *J. Chromatogr.*, **826**, 401 (1998).
- ¹¹¹ Gundersen J. L.: *J. Chromatogr.*, **914**, 161 (2001).
- ¹¹² Voogt P., Beer K., Wielen F.: *Trends in Anal. Chem.*, **16**, 584 (1997).
- ¹¹³ Fountoulakis M., Drillia P., Pakou C., Kampioti A., Stamatelatos K., Lyberatos G.: *J. Chromatogr. A*, **1089**, 45–51 (2005).
- ¹¹⁴ Ferguson P. L., Iden Ch. R., Brownawell B. J.: *Anal. Chem.*, **67**, 1797 (2001).
- ¹¹⁵ Takino M, Daishima S., Yamaguchi K.: *J.Chromatogr.*, **904**, 65 (2000)
- ¹¹⁶ Cserhádi T.: *Analytical Letters*, **27**, 2615 (1999).
- ¹¹⁷ Cheng Ch. Y., Ding W. H.: *J. Chromatogr. A*, **968**, 143–150 (2002).
- ¹¹⁸ Marconimi A., Giger W.: *Anal. Chem.*, **59**, 1709 (1987).
- ¹¹⁹ Kibbey T. C. G., Yavaraski T. P., Hayes K. F.: *J. Chromatogr.*, **752**, 155 (1996).
- ¹²⁰ Lee H. B., Peart T., Bennie D. T., Maguire R. J.: *J. Chromatogr.*, **785**, 385 (1997).
- ¹²¹ Tsuda T., Suga K., Kaneda E., Ohsuga M.: *J. Chromatogr. B*, **746**, 305-309 (2000).
- ¹²² Scarlett M. J., Fisher J. A., Zhang H., Ronan M.: *Wat. Res.*, **10**, 2109 (1994).
- ¹²³ Kósa Á., Dobó A., Vékey K., Forgács E.: *J. Chromatogr.*, **819**, 297 (1998).
- ¹²⁴ Houde F., DeBlois Ch., Berryman D.: *J. Chromatogr. A*, **961**, 245-256 (2002).

- ¹²⁵ Komers K.: *Elektrické, magnetické a optické vlastnosti molekul*, VŠCHT Pardubice, 1977.
- ¹²⁶ Tockstein A.: *Základy fyzikální chemie 2.díl*, VŠCHT Pardubice, 2000.
- ¹²⁷ Václavíková M., Lovás M., Jakabský Š., Karas S., Hredzák S.: *Acta Montanistica Slovaca*, **7**, 23 (2002).
- ¹²⁸ Mucha P., Hencel V.: *Tvorba feritov v odpadných vodách, obsahujúcich rozpustné ťažké kovy*, In: Proc.of the 1st Int. Conf. on Environment and Technology, TU Košice, 122 (1994).
- ¹²⁹ Johnson M.D.: *Using magnetites to remediate heavy metal wastewaters from acid – mine drainag.*, In: Book of abstract of NATO Advanced Research Workshop on Application of Natural Microporous Mat. to the Environmental Techn., Smolenice, 45 (1998).
- ¹³⁰ Gupta A. K., Gupta M.: *Biomaterials*, **26**, 3995 (2005).
- ¹³¹ Šafaříková M., Šafařík I.: *Chem. Listy*, **89**, 280 (1995).
- ¹³² Yamamura M., M., Camiloa R. L., Sampaiob L. C., Macedoc M. A., Nakamurad M., Tomad H.E.: *J. Magn. Magn. Mater.*, **279**, 210 (2004).
- ¹³³ Šafaříková M., Šafařík I.: *J. Magn. Magn. Mater.*, **194**, 108 (1999).
- ¹³⁴ Šafařík I., Šafaříková M.: *Separation Science and Technology*, **32**, 2385 (1997).
- ¹³⁵ Šafařík I., Nymburská K., Šafaříková M.: *J. Chem. Tech. Biotechnol*, **69**, 1 (1997).
- ¹³⁶ Šafařík I., Šafaříková M., Buřičová V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **60**, 1448 (1995).
- ¹³⁷ Šafaříková M., Roy I., Gupta M. N., Šafařík I.: *J. Biotechnol.*, **105**, 255 (2003).
- ¹³⁸ Šafaříková M., Šafařík I.: *Biotechnol. Lett.*, **22**, 941 (2000).
- ¹³⁹ Šafaříková M., Ptáčková L., Kibriková I., Šafařík I.: *Chemosphere*, **59**, 831 (2005).
- ¹⁴⁰ Šafařík I., Šafaříková M., Weyda F., Mosiniewicz-Szablewska E., Slawska-Waniewska A.: *J. Magn. Magn. Mater.*, **293**, 377-381 (2005).
- ¹⁴¹ Maxwell E.: *Cryogenics*, **15**, 179 (1975).
- ¹⁴² Fuh C. B., Su Y. S., Tsai H. Y.: *J. Chromatogr. A.*, **27**, 289 (2004).
- ¹⁴³ Šafařík I.: *Biotechnol. Techniques*, **9**, 137 (1995).
- ¹⁴⁴ Hartig R. a kol.: *Electrophoresis*, **13**, 674 (1992).
- ¹⁴⁵ Tartaj P. a kol.: *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **36**, 182 (2003).
- ¹⁴⁶ Šafařík I., Šafaříková M.: *Chem. Listy*, **88**, 464 (1994).
- ¹⁴⁷ Šafařík I., Šafaříková M.: *J. Chromatogr. B.*, **1**, 33 (1999).
- ¹⁴⁸ Greenfield L. J., Sun F., Neelands T. R., Burgard E. C., Donnelly J. L., MacDonald R. L.: *Neuropharmacology*, **36**, 63 (1997).
- ¹⁴⁹ Šafařík I., Šafaříková M.: *J. Biochemical and Biophysical Methods*, **27**, 327, (1993).

- ¹⁵⁰ Pollema C.H., Ruzicka J., Christian G.D., Lernmark A.: *Anal.Chem.*, **64**, 1356 (1992).
- ¹⁵¹ Jakabský Š., Lovás M., Hredzák S.: *Acta Montanistica Slovaca*, **5**, 245 (2000).
- ¹⁵² Shen H., Forssberg E.: *Waste Management*, **23**, 933 (2003).
- ¹⁵³ Shaikh A. M. H., Dixit S. G.: *Wat. Res.*, **26**, 845 (1992).
- ¹⁵⁴ Shaikh A. M. H., Dixit S. G., Venkatachalam S.: *J. Colloid Interface Sci.*, **155**, 340 (1993).
- ¹⁵⁵ Fuh C. B., Tsai H. Y., Lai J. Z.: *Anal. Chim. Acta*, **497**, 115 (2003).
- ¹⁵⁶ Chen W.Y., Anderson P.R., Holsen T.M.: *Research J. WPCF*, **63**, 958 (1991).
- ¹⁵⁷ Rorrer G.L., Hsien T., Way D.: *Ind. Eng. Chem. Res.*, **32**, 2170 (1993).
- ¹⁵⁸ Bolto B. A.: *Waste Management*, **10**, 11 (1990).
- ¹⁵⁹ Bahaj A. S., James P. A. B., Moeschler D.: *Wat. Sci. Technol.*, **38**, 311 (1998).
- ¹⁶⁰ Lawruk T. S., Hottenstein C. S., Herzog D. P., Rubio F. M.: *Bull Environ Contam Toxicol.*, **48**, 643-650 (1992).
- ¹⁶¹ Sakai Y.; Miama T.; Takahashi F.: *Water Research*, **31**, 2113-2116 (1997).
- ¹⁶² Park J.W., Jaffe, P. R.: *J. Environ. Engineer.*, **121**, 430-437 (1995).
- ¹⁶³ Šafařík I.: *Water Res.*, **29**, 101-105 (1995).
- ¹⁶⁴ Šafařík I., Šafaříková M., Vrchotová N.: *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **60**, 34-42 (1995).
- ¹⁶⁵ ISO 18857-1, Determination of selected alkylphenols – part1: Method for non-filtred samples using liquid extraction and gas chromatography with mass selective detection, 2003.

6. Přehled publikační činnosti

6.1 Publikace a sdělení v časopisech

Č1) Komárek K., Hubka T., Pitter P., Sýkora V., Šafaříková M., Šafařík I.: Analýza reziduí nonylfenolů ve vodním prostředí pomocí plynové chromatografie po jejich předchozí extrakci, 55. Sjazd chemických společností, 8. - 12.9.2003, Košice, Chem. Listy 97, 825.

Č2) Hubka T., Komárek K., Šafaříková M., Šafařík I.: Extrakce vybraných typů neionických tenzidů a jejich biodegradačních produktů z vody magnetickou tuhou fází, 56. sjezd chemických společností, 6.-9.9.2004, Ostrava, Chem. Listy 98, 527-528.

Č3) Komárek K., Šafaříková M., Ptáčková L., Hubka T., Šafařík I.: Využití extrakce magnetickou tuhou fází ke stanovení Tergitolu ve vzorcích vody, 56. sjezd chemických společností, 6.-9.9.2004, Ostrava, Chemické listy 98, 704 - 705 .

Č4) Hubka T., Komárek K., Šafaříková M., Šafařík I., Pitter P., Sýkora V., Kujalová H.: Využití chromatografických náplní jako sorbentů pro extrakci alkylfenolů magnetickou tuhou fází, 57. Zjazd chemických společností, 4.-8.9.2005, Tatranské Matliare, SR, ChemZi 1/1 264-265.

Č5) Hubka T., Kandelová M., Komárek K.: Extrakce 4-nonylphenol monoethoxylátu z vody magnetickou tuhou fází, 58. sjezd chemických společností, 4.-8.9.2006, Ústí nad Labem, Chemické listy 121.

Č6) Šafaříková, M., Kibriková, I., Ptáčková, L., Hubka, T., Komárek, K., Šafařík, I.: Magnetic solid phase extraction of non-ionic surfactants from water, J. Magn. Magn. Mater. 293 (2005) 377-381.

Č7) Šafaříková, M., Luňáčková, P., Komárek, K., Hubka, T., Šafařík, I.: Preconcentration of middle oxyethylated nonylphenols from water samples on magnetic solid phase, J. Magn. Magn. Mater. 311 (2007) 405 – 408.

Č8) Komárek K., Šafaříková M., Hubka T., Šafařík I., Kandelová M.: Extraction of alkylphenols and nonylphenols mono and dioxyethylenates from water using magnetically modified adsorbents. Chromatographia. V recenzním řízení.

Č9) Kujalová H., Sýkora V., Pitter P., Hubka T., Komárek K.: Biodegradability of nonyl phenols and their ethoxylates. Chemosphere, V přípravě.

Č10) Komárek K., Hubka T., Šafaříková M., Elcnerová M., Šafařík I., Kujalová H.: Determination of alkylphenols and alkylphenoxyethylenates in water using magnetically

modified chromatographic column packing for extraction. Sci. Pap. Univ. Pardubice. V recenzním řízení.

6.2 Příspěvky ve sbornících

S1) Komárek K, Hubka T., Pitter P., Sýkora V., Ptáková H., Šafaříková M., Šafařík I.: Stanovení nonylfenolů ve vodě pomocí kapilární plynové chromatografie po jejich předchozí extrakci kapalinou a magnetickou tuhou fází, XXXVI. Seminář o tensidech a detergentech, 3.-5.11. 2003, Lázně Bohdaneč, Sborník přednášek str. 33 – 41.

S2) Komárek, K., Šafaříková, M., Ptáčková, L., Hubka, T., Šafařík, I.: Extrakce neionických tensidů z vody pomocí magnetické tuhé fáze, XXXVII. Seminář o tensidoch a detergentoch, 19.-20.10. 2004, Bojnice, Zborník prednášok str. 64 – 73.

S3) Hubka T., Komárek K., Ptáková H., Sýkora V.: Analýza produktů vzniklých po biologickém rozkladu oxyethylenovaných nonylfenolů, XXXVII. Seminář o tensidoch a detergentoch, 19. – 20.10. 2004, Bojnice, Zborník prednášok str. 84 - 92.

S4) Hubka T., Komárek K., Ptáková H.: GC analýza reziduí nonylfenolů v reakčních směsích po jejich biologickém rozkladu, Monitorování cizorodých látek v životním prostředí, VI., 7.-8.4.2004, Podivice, Sborník přednášek str. 81-88.

S5) Komárek K., Hubka T., Pitter P., Sýkora V., Kujalová H.: Analytické sledování průběhu biologické rozložitelnosti nízkých čistých 4-n-nonylfenylpolyethylenglykoloetherů a jim odpovídajících karboxylových kyselin, 38. seminář o tensidech a detergentech, 25.11.2005, Praha, Sborník příspěvků str. 45-48.

S6) Hubka T., Komárek K., Kandelová M., Šafaříková M., Šafařík I., Kujalová H., Stanovení alkylfenolů, alkylfenolmonoethoxylátů a alkylfenoldiethoxylátů ve vodě, 39. seminář o tensidech a detergentech, 4. - 6.11.2006, Lázně Bohdaneč, Sborník příspěvků str. 43 – 55.

6.3 Přednášky na konferencích

K1) Hubka T., Komárek K., Pitter p., Sýkora V., Ptáková H., Šafařík I., Šafaříková M.: Stanovení alkylfenolů ve vodě pomocí kapilární plynové chromatografie po jejich předchozí extrakci kapalinou a magnetickou tuhou fází, 36. seminář o tensidech a detergentech, 15.10. -17.10. 2003, Lázně Bohdaneč.

K2) Komárek K., Šafaříková M., Ptáčková L., Hubka T., Šafařík I.: Extrakce neionických tensidů z vody pomocí magnetické tuhé fáze, XXXVII. seminář o tensidoch a detergentech, 19.10. – 20.10. 2004, Bojnice, Slovensko.

K3) Hubka T., Komárek K., Ptáková H., Sýkora V.: Analýza produktů vzniklých po biologickém

rozkladu oxyethylenovaných nonylfenolů, XXXVII. seminář o tenzidech a detergentech, 19.10. – 20.10. 2004, Bojnice, Slovensko.

K4) Hubka T., Komárek K., Ptáková H.: GC analýza reziduí nonylfenolů v reakčních směsích po jejich biologickém rozkladu, VI. Seminář o monitorování cizorodých látek v životním prostředí, 7.4 – 8.4. 2004, Podivice.

K5) Hubka T., Komárek K., Šafaříková M., Šafařík I.: Extrakce vybraných typů neionických tenzidů a jejich biodegradčních produktů z vody magnetickou tuhou fází, 56. sjezd chemických společností, 6. – 9. 9. 2004, Ostrava.

K6) Komárek K., Hubka T., Pitter P., Sýkora V., Kujalová H.: Analytické sledování průběhu biologické rozložitelnosti nízkých čistých 4-n-nonylfenylpolyethylenglykoloetherů a jim odpovídajících karboxylových kyselin, 38. seminář o tenzidech a detergentech, 25.11.2005, Praha.

K7) Hubka T., Komárek K., Kandelová M., Šafaříková M., Šafařík I., Kujalová H., Stanovení alkylfenolů, alkylfenolmonoethoxylátů a alkylfenoldiethoxylátů ve vodě, 39. seminář o tenzidech a detergentech, 4. – 6. 11.2006, Lázně Bohdaneč.

6.4 Postery na konferencích

P1) Komárek K., Hubka T., Pitter P., Sýkora V., Šafaříková M., Šafařík I.: Analýza reziduí nonylfenolů ve vodním prostředí pomocí plynové chromatografie po jejich předchozí extrakci, 55. Sjezd chemických společností, 8.-12.9. 2003, Košice, Slovensko.

P2) Šafaříková, M., Kibriková, I., Ptáčková, L., Hubka, T., Komárek, K., Šafařík, I.: Magnetic solid phase extraction of non-ionic tensides from water, 5th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, 20.5 - 22.5. 2004, Lyon, France.

P3) Hubka T., Komárek K., Sýkora V., Ptáková H.: Biodegradability of alkylphenols and determination of their residues in water phase, 12. mezinárodní symposium Advances and applications of chromatography in industry, 29.6. – 1.7. 2004, Bratislava, Slovensko

P4) Komárek K., Náhrabecký K., Hubka T., Šafaříková M., Šafařík I.: Development of the MSPE method for determination of the phthalic acid's low esters in water, 12. mezinárodní symposium Advances and applications of chromatography in industry, 29.6. – 1.7. 2004, Bratislava, Slovensko

P5) Komárek K., Šafaříková M., Ptáčková L., Hubka T., Šafařík I.: Využití extrakce magnetickou tuhou fází ke stanovení Tergitolu ve vzorcích vody, 56. sjezd chemických společností, 6. – 9. 9. 2004, Ostrava

- P6) Hubka T., Komárek K., Šafaříková M., Šafařík I., Kujalová H., Sýkora V., Pitter P.: Využití chromatografických náplní jako sorbentů pro extrakci alkylfenolů magnetickou tuhou fází, 57. zjazd chemických spoločností, 4.9. – 8.9. 2005, Tatranské Matliare, Slovensko
- P7) Šafaříková, M., Luňáčková, P., Kibriková, I., Komárek, K., Hubka, T., Šafařík, I.: Předkoncentrace Tergitolu z reálných vzorků vod pomocí magnetických adsorbentů, 57. Zjazd chemických spoločností, 4. 9. – 8. 9. 2005, Tatranské Matliare, Slovensko
- P8) Komárek K., Šafaříková M., Hubka T., Šafařík I., Kandelová M.: Využití extrakce magnetickou tuhou fází při stanovení organických kontaminantů ve vodě, Súčasný stav a perspektívy analytickém chemie v praxi, 19.9. – 21.9. 2005, Bratislava, Slovensko
- P9) Šafaříková, M., Komárek, K., Hubka, T., Luňáčková, P., Šafařík, I.: Ferrofluid modified adsorbents for separation of selected xenobiotics, Nano '05 – Nanovědy, nanotechnologie a nanomateriály. 8. – 10. 11. 2005, Brno.
- P10) Hubka T., Kandelová M., Komárek K.: Extrakce 4-nonylfenol monoethoxylátu z vody magnetickou tuhou fází, 58. sjezd chemických společností, 4.-8.9.2006, Ústí nad Labem.

7. Přílohy

7.1 Seznam příloh

Tab I až IV.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101.....	str. 107-108
Tab V až VIII.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102.....	str.108-109
Tab IX až XII.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103.....	str.109-110
Tab XIII až XVI.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104.....	str. 110-111
Tab XVII až XX.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105.....	str.111-112
Tab XXI až XXIV.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106.....	str.113-114
Tab XXV až XVIII.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S.....	str.114-115
Tab XXIX až XXII.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil.....	str. 115-116
Tab XXIII až XXXVI.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu PFO	str. 116-117
Tab XXXVII až XXXX.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb S.....	str. 117-118
Tab XXXXI až XXXXIV.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb B.....	str. 118-119
Tab XXXXV až XXXXVIII.: Naměřené hodnoty z optimalizace podmínek extrakce směsi alkylfenolů z vody na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex.....	str. 119-120
Graf 1 až 4: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Chromosorb 101.....	str. 121-122
Graf 5 až 8: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Chromosorb 102.....	str. 123-124
Graf 9 až 12: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Chromosorb 104.....	str. 125-126
Graf 13 až 16: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Chromosorb 105.....	str. 127-128

Graf 17 až 20: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Chromosorb 106.....str. 129-130

Graf 21 až 24: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Porapak S.....str. 131-132

Graf 25 až 28: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Tonsil.....str. 133-134

Graf 29 až 32: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem PFO.....str. 135-136

Graf 33 až 36: Závislosti výtěžností na optimalizovaných podmínkách extrakce směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovaným sorbentem Chezacarb S..... str. 137-138

Obr.1: Chromatogram ze separace modelové směsi alkylfenolů (1. 4-*n*-propylfenol, 2. 2,4-diisopropylfenol, 3. 2,4-di-*terc*-butylfenol, 4. 4-*terc*-oktylfenol, 5. 2,4-di-*terc*-pentylfenol, 6. 4-*n*-oktylfenol, 7. 4-*n*-nonylfenol) za pracovních podmínek uvedených v kapitole 3.3.

Obr.2. Chromatogram z analýzy technické směsi nonylfenolů (Sloveca) používaných jako výchozí surovina k výrobě oxyethylenovaných nonylfenolů za pracovních podmínek uvedených v kapitole 3.3.

Obr.3. Chromatogram z analýzy technické směsi nonylfenolů (Riedel de Haen) používaných jako výchozí surovina k výrobě oxyethylenovaných nonylfenolů za pracovních podmínek uvedených v kapitole 3.3.

Obr.4. Chromatogram z analýzy technické směsi nonylfenolů (Sigma Aldrich) používaných jako výchozí surovina k výrobě oxyethylenovaných nonylfenolů za pracovních podmínek uvedených v kapitole 3.3.

Obr.5. Chromatogram z analýzy produktů oxyethylenace technické směsi 4-nonylfenolů třemi moly etylenoxidu za pracovních podmínek uvedených v kapitole 3.3.

Obr.6. Chromatogram ze separace modelové směsi složené z 4-*n*-nonylfenolmono-, di- a trioxyethylenátu za pracovních podmínek uvedených v kapitole 3.3.

Obr.7. Chromatogram ze separace modelové směsi složené z 4-*n*-nonylfenoxyoctové, 4-*n*-nonylfenoxy(ethoxy)octové a 4-*n*-nonylfenoxy[ethoxy(ethoxy)]octové kyseliny za pracovních podmínek uvedených v kapitole 3.3.

7.2 Tabulky

Následující kapitola obsahuje tabulky s daty naměřenými při optimalizaci extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody magneticky modifikovanými sorbenty. Optimalizována byla doba sorpce, doba statické eluce, množství elučního rozpouštědla a počet opakovaných elucí. Směs analyzovaných látek (alkylfenolů) se skládala z 4-*n*-propylfenolu, 2,4-diisopropylfenolu, 2,4-di-*terc*-butylfenolu, 4-*terc*-oktylfenolu, 2,4-di-*terc*-pentylfenolu, 4-*n*-oktylfenolu a 4-*n*-nonylfenolu. Při optimalizaci se sorbenty PFO, Chezacarbem S a Chezacarbem B tato směs neobsahovala 4-*terc*-oktylfenol. Směrodatná odchylka RSD (n=3) u všech dat nepřesahuje 10 %.

Tab I. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	5
4- <i>n</i> -Propylfenol	22,7	20,8	18,8	22,3	21,1
2,4-Diisopropylfenol	23,8	18,8	21,3	22,2	22,7
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	34,0	23,3	21,2	21,7	21,3
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	38,4	25,4	23,2	23,3	21,9
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	36,6	23,6	19,4	20,0	17,8
4- <i>n</i> -Oktylfenol	35,8	25,5	20,7	20,4	19,1
4- <i>n</i> -Nonylfenol	39,3	26,1	20,5	20,4	18,7

Tab II. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba sorpce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,33	0,5	1	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	13,3	19,8	13,6	10,8
2,4-Diisopropylfenol	15,2	19,1	17,4	16,0
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	16,2	29,5	23,6	23,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	19,3	39,3	25,9	27,8
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	16,2	36,8	23,7	25,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	16,4	41,2	24,5	23,6
4- <i>n</i> -Nonylfenol	17,3	42,3	23,8	21,6

Tab III. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	15,8	20,2	25,5
2,4-Diisopropylfenol	23,6	33,5	32,0
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	46,4	48,9	45,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	53,3	56,2	53,5
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	50,1	54,7	52,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	50,0	59,0	57,8
4- <i>n</i> -Nonylfenol	49,2	59,1	55,5

Tab IV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	15,9	19,2	27,0
2,4-Diisopropylfenol	23,6	36,0	39,7
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	46,5	57,2	58,7
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	53,3	66,6	70,1
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	50,2	66,5	68,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	50,0	73,9	77,4
4- <i>n</i> -Nonylfenol	49,1	72,7	76,4

Tab V. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	5
4- <i>n</i> -Propylfenol	21,5	28,9	37,1	31,0	24,2
2,4-Diisopropylfenol	41,3	41,3	52,7	47,0	41,3
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	48,4	49,9	65,1	54,0	46,3
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	56,6	57,2	72,3	61,4	52,8
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	51,8	51,7	66,1	59,3	48,4
4- <i>n</i> -Oktylfenol	55,3	54,3	71,0	67,0	54,1
4- <i>n</i> -Nonylfenol	50,0	52,9	70,3	64,6	53,8

Tab VI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba sorpce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,33	0,5	1	2	4
4- <i>n</i> -Propylfenol	36,7	36,3	37,1	42,4	38,4
2,4-Diisopropylfenol	37,8	52,5	52,7	57,4	48,3
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	31,2	54,5	65,1	66,1	62,8
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	29,7	61,0	72,3	76,7	67,6
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	26,6	52,9	66,1	70,3	55,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	29,4	54,7	71,0	71,3	59,5
4- <i>n</i> -Nonylfenol	28,4	51,6	70,3	70,7	56,7

Tab VII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 2 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	42,7	32,4	35,3
2,4-Diisopropylfenol	48,1	38,8	37,5
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	45,8	33,5	31,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	49,4	40,8	36,0
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	43,6	37,5	32,4
4- <i>n</i> -Oktylfenol	44,3	42,6	38,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	41,5	42,5	38,6

Tab VIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	42,7	49,4	47,7
2,4-Diisopropylfenol	48,1	51,5	52,4
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	45,8	45,2	48,6
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	49,4	48,7	53,4
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	43,6	44,1	51,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	44,3	50,3	51,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	41,5	50,8	54,3

Tab IX. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	5
4- <i>n</i> -Propylfenol	11,3	11,1	11,9	11,7	11,1
2,4-Diisopropylfenol	17,0	23,8	27,9	25,9	18,0
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	39,7	40,7	44,3	40,2	31,3
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	47,3	48,2	55,6	52,0	35,2
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	47,5	46,7	52,3	50,9	38,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	51,0	51,9	66,3	56,4	44,0
4- <i>n</i> -Nonylfenol	53,2	52,6	67,7	55,7	46,3

Tab X. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103. Doba sorpce – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,3	0,5	1,0	2,0	4,0
4- <i>n</i> -Propylfenol	11,2	11,4	11,9	11,6	11,4
2,4-Diisopropylfenol	22,8	25,2	28,0	26,7	26,4
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	37,1	42,7	46,5	45,6	43,4
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	48,2	50,9	58,4	57,5	54,1
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	46,2	50,1	56,0	52,8	50,8
4- <i>n</i> -Oktylfenol	53,5	55,5	65,0	63,7	57,9
4- <i>n</i> -Nonylfenol	53,5	57,3	68,7	65,1	61,3

Tab XI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103. Doba sorpce – 1 min, doba statické eluce – 1 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	12,5	10,3	8,2
2,4-Diisopropylfenol	32,3	22,7	20,9
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	56,9	32,0	29,9
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	65,1	41,8	37,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	67,3	39,3	32,3
4- <i>n</i> -Oktylfenol	67,3	50,4	47,1
4- <i>n</i> -Nonylfenol	66,4	50,2	49,1

Tab XII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 103. Doba sorpce – 1 min, doba statické eluce – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	12,5	20,3	27,4
2,4-Diisopropylfenol	32,3	38,0	40,6
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	56,9	56,3	61,6
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	65,1	77,4	81,7
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	67,3	72,0	75,9
4- <i>n</i> -Oktylfenol	67,3	90,7	95,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	66,4	94,0	99,4

Tab XIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	5
4- <i>n</i> -Propylfenol	21,1	19,9	19,0	19,2	23,2
2,4-Diisopropylfenol	44,6	33,8	31,3	28,9	30,6
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	81,2	56,0	47,4	41,7	43,1
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	94,7	72,2	65,8	60,0	55,5
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	95,8	67,1	58,2	51,6	51,6
4- <i>n</i> -Oktylfenol	96,8	72,2	65,6	56,1	54,3
4- <i>n</i> -Nonylfenol	93,5	68,6	58,1	50,7	51,1

Tab XIV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba sorpce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,33	0,5	1	2
4- <i>n</i> -Propylfenol	18,8	27,6	19,3	18,2
2,4-Diisopropylfenol	21,1	25,8	22,3	23,7
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	27,9	36,3	33,3	32,3
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	36,3	48,9	42,6	41,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	32,6	43,1	38,3	39,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	35,7	49,0	41,0	40,0
4- <i>n</i> -Nonylfenol	34,0	46,0	37,9	37,6

Tab XV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	19,4	22,9	26,3
2,4-Diisopropylfenol	20,5	26,9	26,2
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	26,4	25,8	35,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	43,0	34,0	41,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	37,4	31,8	40,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	39,3	34,6	43,4
4- <i>n</i> -Nonylfenol	37,5	38,6	46,1

Tab XVI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	19,4	26,3	31,6
2,4-Diisopropylfenol	20,5	30,4	32,6
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	26,4	43,5	45,6
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	43,0	55,9	59,9
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	37,4	51,7	54,8
4- <i>n</i> -Oktylfenol	39,3	54,4	57,9
4- <i>n</i> -Nonylfenol	37,5	52,3	56,6

Tab XVII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	5	8
4- <i>n</i> -Propylfenol	21,2	21,6	22,1	28,3	35,9	40,7
2,4-Diisopropylfenol	23,7	25,1	28,1	32,0	39,6	48,9
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	21,2	26,0	35,2	38,4	38,0	52,3
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	23,8	31,5	41,6	41,1	42,5	58,9
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	21,2	29,8	37,3	37,6	37,6	54,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	26,0	36,4	44,7	46,4	44,0	62,5
4- <i>n</i> -Nonylfenol	26,1	37,0	43,6	45,9	44,5	59,7

Tab XVIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba sorpce – 6 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,33	0,5	1	2	4
4- <i>n</i> -Propylfenol	47,0	43,1	43,0	41,9	41,1
2,4-Diisopropylfenol	57,0	49,9	48,1	43,2	43,3
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	61,2	43,5	42,3	39,5	38,4
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	65,9	48,9	48,1	46,4	45,5
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	61,4	44,2	48,0	40,2	40,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	68,7	53,8	52,1	52,2	51,9
4- <i>n</i> -Nonylfenol	70,7	40,5	52,2	53,0	52,2

Tab XIX. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	46,2	49,3	31,2
2,4-Diisopropylfenol	51,3	49,5	33,6
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	51,5	37,0	23,4
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	55,5	38,7	23,9
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	48,6	33,7	19,9
4- <i>n</i> -Oktylfenol	55,4	39,3	24,3
4- <i>n</i> -Nonylfenol	55,5	38,3	22,9

Tab XX. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	44,5	49,1	58,1
2,4-Diisopropylfenol	46,9	63,8	69,3
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	55,4	70,4	77,5
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	62,5	81,6	85,9
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	57,1	77,3	82,3
4- <i>n</i> -Oktylfenol	68,4	91,9	95,6
4- <i>n</i> -Nonylfenol	71,1	97,0	98,5

Tab XXI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látko/čas (min)	0,5	1	2	3	4	5
4- <i>n</i> -Propylfenol	38,4	39,8	50,7	52,0	48,0	23,3
2,4-Diisopropylfenol	26,4	31,1	35,4	35,2	34,0	21,0
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	25,3	25,8	30,3	33,6	30,2	18,1
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	39,7	40,1	46,5	52,3	50,4	27,6
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	27,4	27,8	30,7	33,7	30,2	17,7
4- <i>n</i> -Oktylfenol	33,4	34,6	42,4	50,0	43,8	23,8
4- <i>n</i> -Nonylfenol	46,8	54,7	67,4	68,1	60,2	23,0

Tab XXII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba sorpce – 3 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látko/čas (min)	0,33	0,5	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	76,0	63,9	54,0	43,9	22,0
2,4-Diisopropylfenol	47,3	38,6	36,2	28,0	16,7
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	38,2	28,0	25,0	24,4	13,8
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	59,2	46,8	41,2	40,6	22,0
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	36,1	25,8	20,9	23,0	13,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	50,8	41,5	35,9	36,3	17,3
4- <i>n</i> -Nonylfenol	80,6	59,6	53,2	52,6	20,7

Tab XXIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látko/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	63,0	74,1	76,9
2,4-Diisopropylfenol	41,4	47,6	43,8
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	24,1	29,0	27,0
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	32,8	36,6	34,4
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	18,6	22,8	21,4
4- <i>n</i> -Oktylfenol	26,0	29,8	28,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	25,7	32,3	31,0

Tab XXIV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	70,7	75,5	77,4
2,4-Diisopropylfenol	46,9	52,8	59,0
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	45,1	45,0	46,4
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	66,0	62,7	63,2
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	46,3	46,7	45,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	58,7	61,1	55,9
4- <i>n</i> -Nonylfenol	81,7	73,6	76,9

Tab XXV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	4
4- <i>n</i> -Propylfenol	31,6	47,8	54,0	58,8	36,1
2,4-Diisopropylfenol	26,2	27,8	37,8	43,1	28,2
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	27,3	27,6	29,0	38,5	28,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	39,1	42,7	45,0	53,2	45,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	20,8	25,8	28,9	41,3	26,9
4- <i>n</i> -Oktylfenol	32,5	36,1	40,5	56,0	41,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	37,6	40,6	43,8	66,0	50,4

Tab XXVI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba sorpce – 3 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,33	0,5	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	47,5	47,1	47,1	46,9	45,2
2,4-Diisopropylfenol	37,9	36,5	36,5	33,2	30,9
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	35,0	33,4	33,4	24,5	22,9
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	54,8	47,0	47,0	34,0	31,9
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	38,3	34,7	34,7	21,8	19,4
4- <i>n</i> -Oktylfenol	58,1	45,9	45,9	30,1	30,1
4- <i>n</i> -Nonylfenol	56,9	42,0	42,0	36,5	33,8

Tab XXVII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	48,5	55,4	51,5
2,4-Diisopropylfenol	44,4	47,9	49,5
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	48,0	47,8	44,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	74,3	73,5	69,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	56,3	56,2	52,6
4- <i>n</i> -Oktylfenol	78,3	77,3	76,8
4- <i>n</i> -Nonylfenol	78,6	74,0	76,9

Tab XXVIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	27,9	33,2	62,8
2,4-Diisopropylfenol	20,5	32,4	45,5
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	20,2	26,6	33,1
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	29,6	22,8	41,9
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	22,9	17,6	30,6
4- <i>n</i> -Oktylfenol	29,9	34,0	38,5
4- <i>n</i> -Nonylfenol	35,3	42,6	53,9

Tab XXIX. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	4
4- <i>n</i> -Propylfenol	9,6	10,2	10,0	9,9	9,4
2,4-Diisopropylfenol	13,9	16,5	14,9	15,3	15,9
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	25,5	29,9	25,8	26,5	28,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	27,4	33,1	31,0	31,7	33,0
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	29,1	35,7	32,0	32,5	32,9
4- <i>n</i> -Oktylfenol	28,1	33,9	33,3	34,3	35,3
4- <i>n</i> -Nonylfenol	28,2	31,2	32,1	31,8	31,1

Tab XXX. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba sorpce – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,3	0,5	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	9,2	9,4	9,3	8,9	8,8
2,4-Diisopropylfenol	14,7	12,7	11,5	11,1	10,8
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	26,2	20,8	17,5	17,2	16,4
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	30,9	24,6	20,6	19,8	19,7
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	31,1	23,9	19,9	19,4	18,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	33,4	25,9	21,5	20,4	20,3
4- <i>n</i> -Nonylfenol	32,5	25,5	23,1	19,9	19,8

Tab XXXI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba sorpce – 1 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	9,0	9,2	10,2
2,4-Diisopropylfenol	10,9	12,2	14,3
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	18,7	18,9	21,8
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	23,0	23,5	26,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	23,7	23,2	26,8
4- <i>n</i> -Oktylfenol	25,8	26,7	31,1
4- <i>n</i> -Nonylfenol	28,7	26,9	29,9

Tab XXXII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba sorpce – 1 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	9,0	16,9	24,9
2,4-Diisopropylfenol	12,5	21,1	25,2
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	23,4	34,7	32,2
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	26,0	44,7	42,7
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	26,7	43,2	41,4
4- <i>n</i> -Oktylfenol	31,9	49,9	48,8
4- <i>n</i> -Nonylfenol	32,4	49,8	49,2

Tab XXXIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	1,5	2	3	4	6	8
4- <i>n</i> -Propylfenol	26,3	40,0	47,7	47,8	51,8	55,5	64,8	54,9
2,4-Diisopropylfenol	20,9	31,6	39,9	40,5	43,1	47,4	53,0	44,8
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	15,9	19,1	23,0	22,9	23,5	25,2	26,8	26,0
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	3,7	5,4	8,0	7,9	9,5	10,1	11,5	11,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	30,4	36,5	46,1	46,3	56,8	62,3	67,6	65,8
4- <i>n</i> -Nonylfenol	17,9	21,3	28,4	27,6	35,0	42,4	45,1	43,8

Tab XXXIV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba sorpce – 6 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	4
4- <i>n</i> -Propylfenol	49,3	53,2	54,7	55,4	53,4
2,4-Diisopropylfenol	38,5	44,4	45,5	46,9	45,2
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	18,4	21,9	21,5	22,0	21,5
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	26,9	31,7	29,5	29,6	27,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	49,1	57,8	59,6	62,5	58,9
4- <i>n</i> -Nonylfenol	35,2	42,8	43,6	45,7	42,0

Tab XXXV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 3 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	68,6	49,9	48,0
2,4-Diisopropylfenol	58,0	38,5	39,4
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	32,9	24,6	21,5
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	38,4	25,3	21,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	73,5	51,3	48,4
4- <i>n</i> -Nonylfenol	49,5	34,4	33,1

Tab XXXVI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 3 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	43,4	45,2	49,3
2,4-Diisopropylfenol	41,6	57,1	67,4
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	38,6	55,9	88,5
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	40,1	72,3	94,7
4- <i>n</i> -Oktylfenol	73,2	87,6	97,1
4- <i>n</i> -Nonylfenol	51,3	70,7	95,4

Tab XXXVII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chezcarb S. Doba statické eluce methanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	1,5	2	3	4	6
4- <i>n</i> -Propylfenol	49,1	64,4	68,4	33,5	29,7	26,5	22,5
2,4-Diisopropylfenol	35,3	59,0	58,1	24,7	23,1	20,8	16,6
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	35,4	58,5	62,3	25,8	23,9	21,1	17,1
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	22,1	39,5	40,6	16,5	15,2	13,1	10,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	20,1	36,4	38,9	16,0	14,2	12,6	10,0
4- <i>n</i> -Nonylfenol	24,9	46,1	50,2	19,3	17,1	15,8	12,4

Tab XXXVIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chezcarb S. Doba sorpce – 1,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,25	0,5	1	2	4
4- <i>n</i> -Propylfenol	30,5	51,2	28,1	31,6	26,9
2,4-Diisopropylfenol	22,4	39,2	17,4	19,6	16,6
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	23,0	41,7	15,6	18,4	16,8
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	14,8	26,6	9,5	11,5	10,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	12,9	24,8	7,5	9,3	8,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	15,2	30,8	8,4	11,0	10,2

Tab XXXIX. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb S. Doba sorpce – 1,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	33,5	33,7	36,3
2,4-Diisopropylfenol	46,8	49,0	48,2
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	22,5	33,5	32,6
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	16,8	24,7	20,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	37,0	38,8	33,6
4- <i>n</i> -Nonylfenol	25,4	29,5	27,4

Tab XXXX. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb S. Doba sorpce – 1,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	33,5	42,7	60,2
2,4-Diisopropylfenol	46,8	65,2	70,9
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	36,3	75,2	90,2
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	32,8	64,6	83,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	45,2	68,8	91,3
4- <i>n</i> -Nonylfenol	55,5	79,5	85,6

Tab XXXXI. Závislost plochy píků modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb B. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	1,5	2	3	4	6
4- <i>n</i> -Propylfenol	1,5	1,7	1,6	1,9	1,6	1,6	1,5
2,4-Diisopropylfenol	1,6	1,6	1,6	1,9	1,6	1,6	1,7
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	1,1	1,0	0,9	1,4	1,0	1,0	1,1
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	0,8	0,7	0,7	1,7	1,0	0,9	0,7
4- <i>n</i> -Oktylfenol	0,7	0,6	0,4	1,5	0,9	0,6	0,5
4- <i>n</i> -Nonylfenol	6,5	6,0	5,9	9,2	6,9	6,2	5,9

Tab XXXXII. Závislost plochy píků modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb B. Doba sorpce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	1,5	2	5
4- <i>n</i> -Propylfenol	1,6	2,2	1,4	1,6	1,5
2,4-Diisopropylfenol	1,6	1,9	1,4	1,3	1,4
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	1,0	1,3	0,8	0,8	0,7
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	0,7	0,8	0,7	0,5	0,5
4- <i>n</i> -Oktylfenol	0,4	0,8	0,7	0,5	0,4
4- <i>n</i> -Nonylfenol	5,9	8,0	5,6	5,5	5,0

Tab XXXXIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb B. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 1 min, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	33,0	33,2	32,2
2,4-Diisopropylfenol	28,1	28,6	28,3
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	20,3	10,7	8,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	16,5	4,3	1,2
4- <i>n</i> -Oktylfenol	17,7	7,7	3,8
4- <i>n</i> -Nonylfenol	21,7	10,5	6,7

Tab XXXXIV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb B. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

látka/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	33,0	42,4	57,3
2,4-Diisopropylfenol	28,1	30,1	51,0
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	27,0	45,8	63,4
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	16,2	32,7	47,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	32,4	63,7	78,3
4- <i>n</i> -Nonylfenol	35,6	70,9	86,6

Tab XXXXV. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex. Doba statické eluce methanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,5	1	2	3	5
4- <i>n</i> -Propylfenol	10,4	10,2	11,0	11,2	10,2
2,4-Diisopropylfenol	20,9	21,2	28,8	25,7	23,0
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	33,4	35,7	48,2	43,0	37,8
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	36,8	40,4	52,9	52,5	43,6
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	41,3	44,4	56,2	51,5	46,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	39,3	41,2	48,9	46,1	43,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	35,2	39,5	46,6	44,4	42,3

Tab XXXXVI. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex. Doba sorpce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

látka/čas (min)	0,3	0,5	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	10,7	11,0	11,4	11,6	10,6
2,4-Diisopropylfenol	23,5	24,4	25,3	32,6	24,7
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	38,0	39,5	39,6	55,1	41,6
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	41,1	43,4	49,7	62,4	48,3
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	44,1	45,1	46,9	64,5	49,1
4- <i>n</i> -Oktylfenol	37,9	40,2	47,6	59,9	48,0
4- <i>n</i> -Nonylfenol	36,6	40,0	43,0	57,1	44,4

Tab XXXXVII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 2 min, počet opakovaných elucí – 1x.

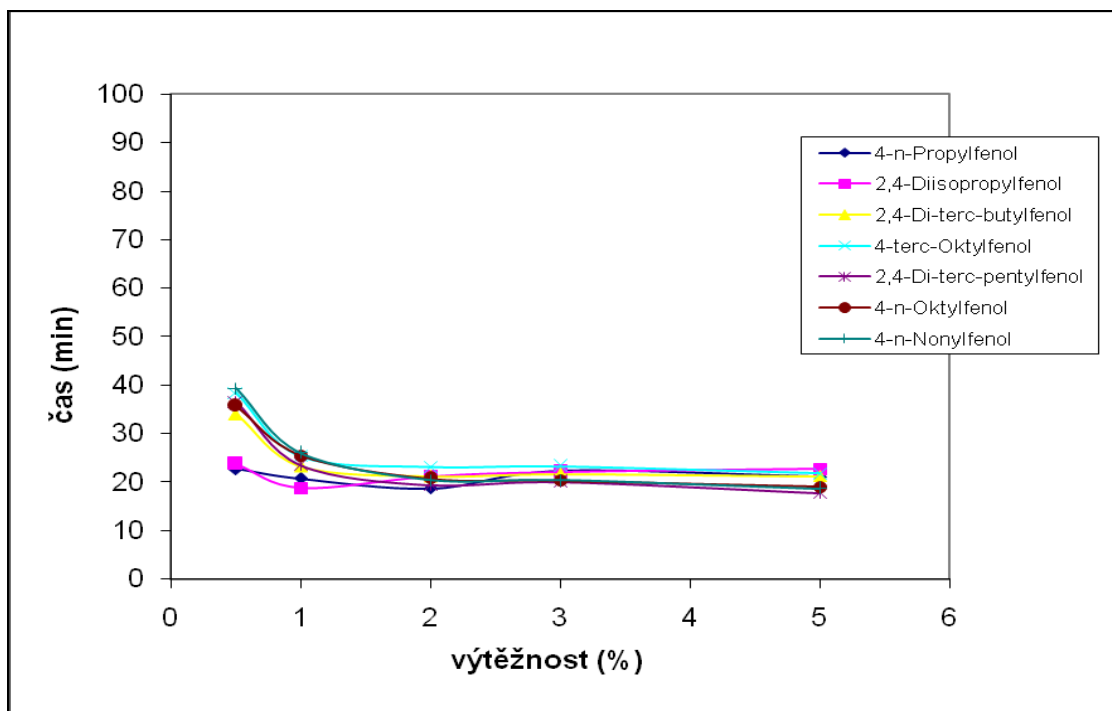
látko/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	11,4	17,6	25,0
2,4-Diisopropylfenol	29,7	25,5	26,7
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	49,9	39,5	33,7
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	57,1	45,9	41,2
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	57,3	44,2	39,3
4- <i>n</i> -Oktylfenol	58,3	49,9	46,6
4- <i>n</i> -Nonylfenol	56,9	51,5	49,4

Tab XXXXVIII. Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Rudex. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

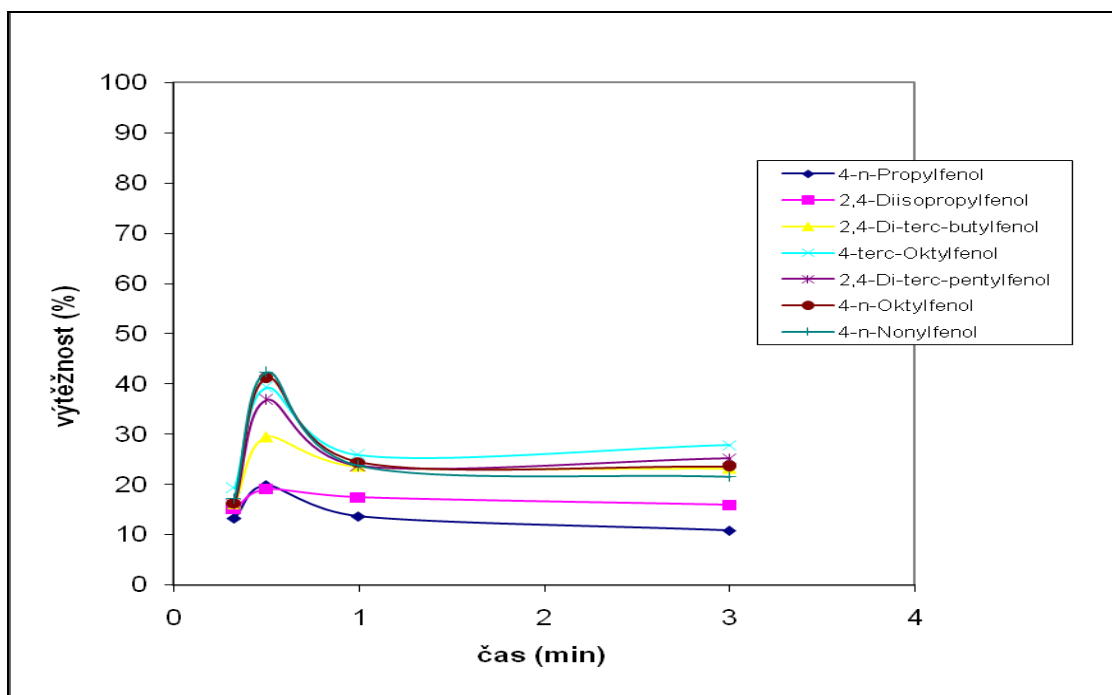
látko/objem (ml)	1	2	3
4- <i>n</i> -Propylfenol	11,4	19,2	24,7
2,4-Diisopropylfenol	29,7	39,4	40,3
2,4-Di- <i>terc</i> -butylfenol	49,9	61,4	61,9
4- <i>terc</i> -Oktylfenol	57,1	69,4	68,5
2,4-Di- <i>terc</i> -pentylfenol	57,3	69,2	73,4
4- <i>n</i> -Oktylfenol	58,3	75,5	76,7
4- <i>n</i> -Nonylfenol	56,9	72,8	76,4

7.2 Grafy

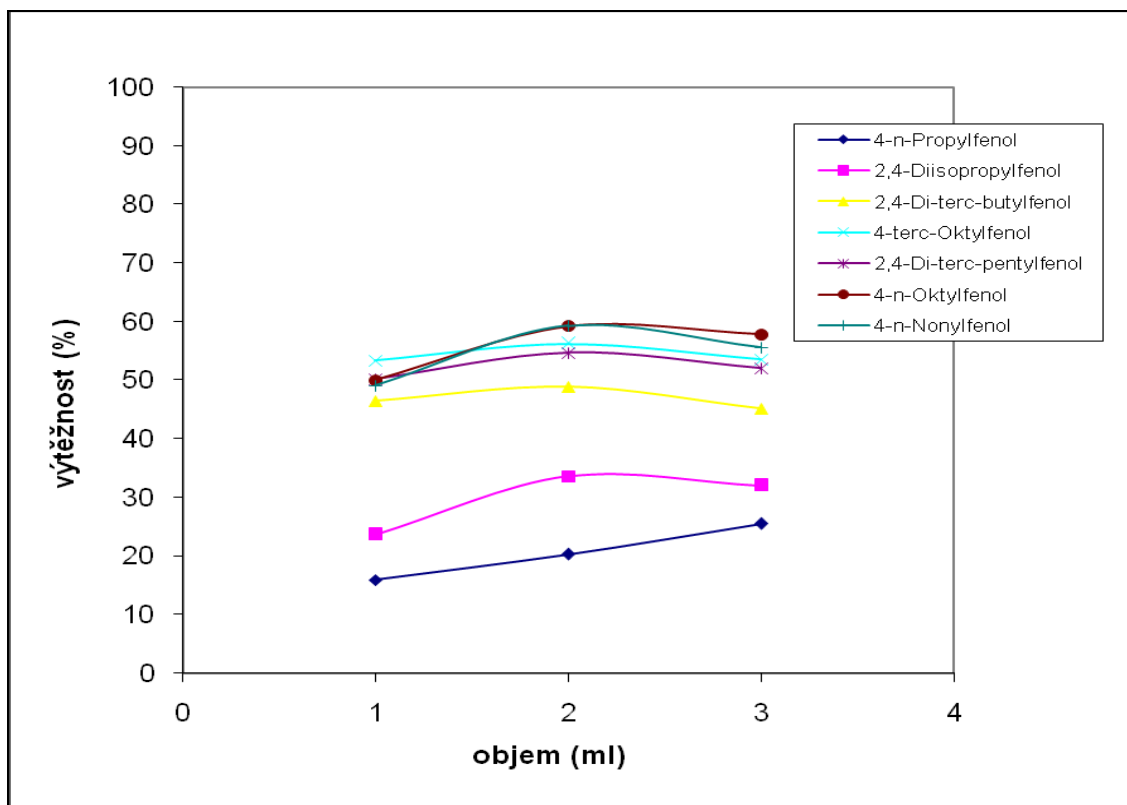
V této části práce jsou obsažena grafická znázornění výtěžností extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody v závislosti na optimalizovaném parametru, jejichž data jsou v tabulkách v předchozí kapitole. Optimalizována byla tedy doba sorpce, doba statické eluce, množství elučního rozpouštědla a počet opakovaných elucí. Grafy pro magneticky modifikované sorbenty Chromosorb 103, Chezacarb B a Rudex jsou uvedeny v kapitole 3.1.1.



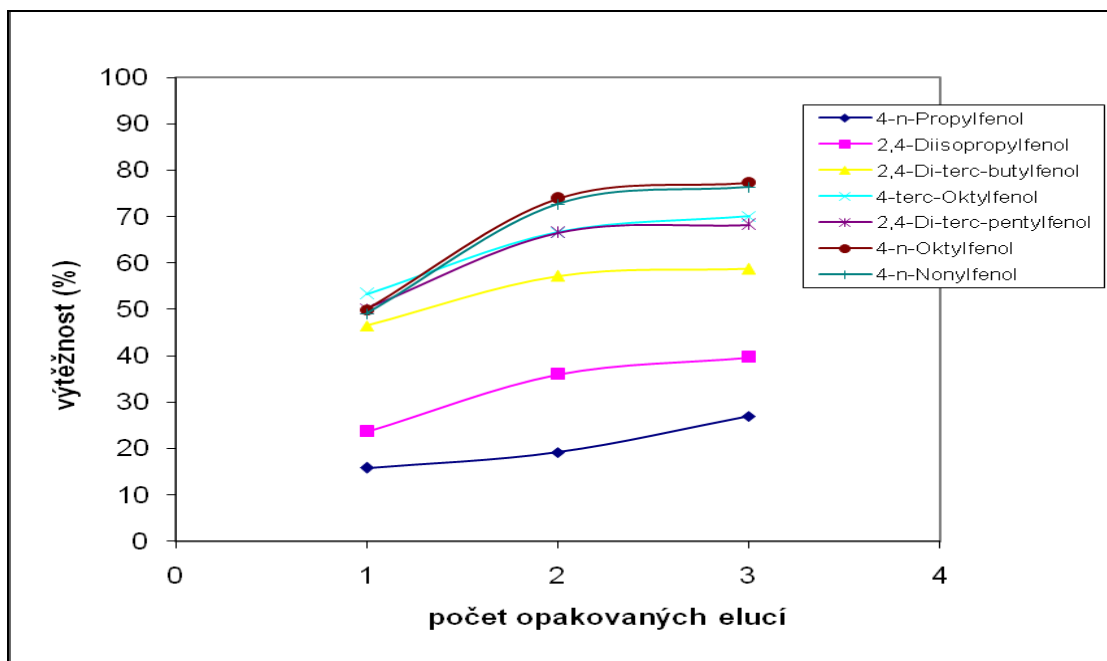
Graf č. 1: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



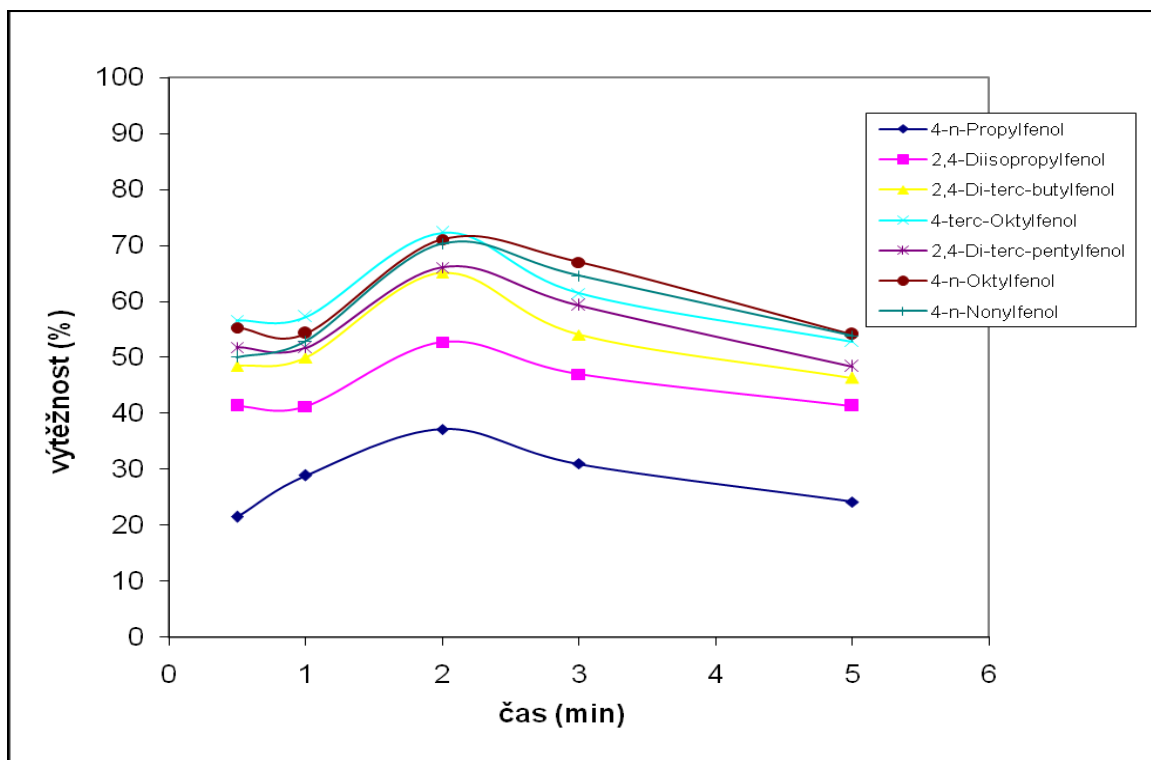
Graf č. 2: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba sorpce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



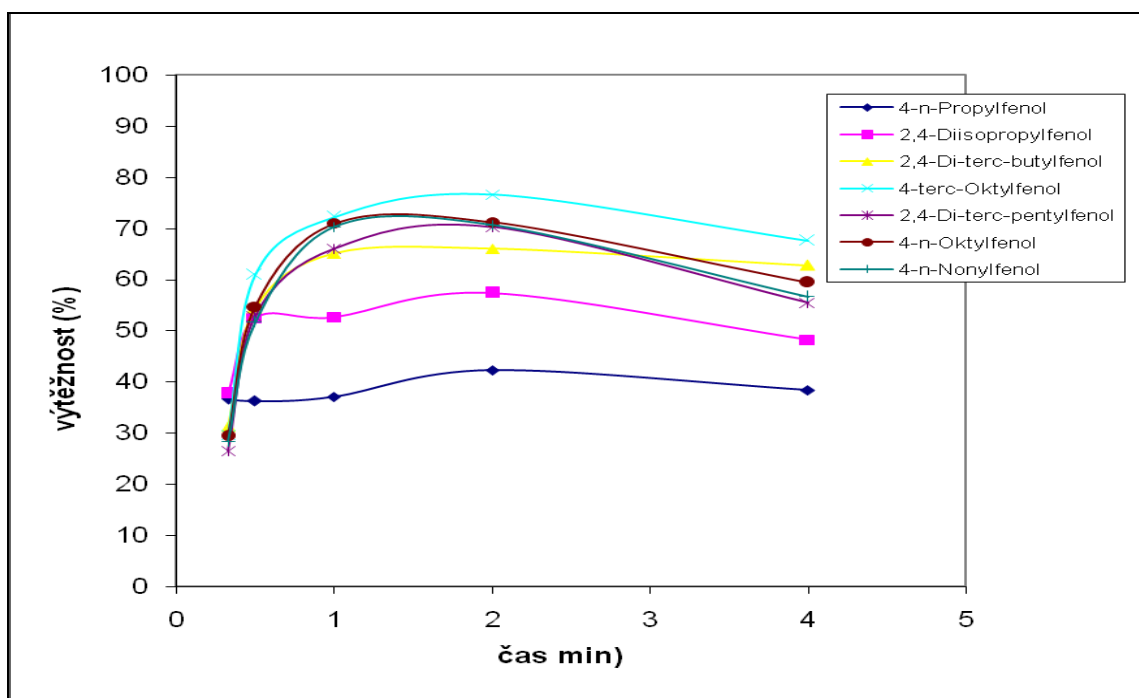
Graf č.3: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, počet opakovaných elucí – 1x.



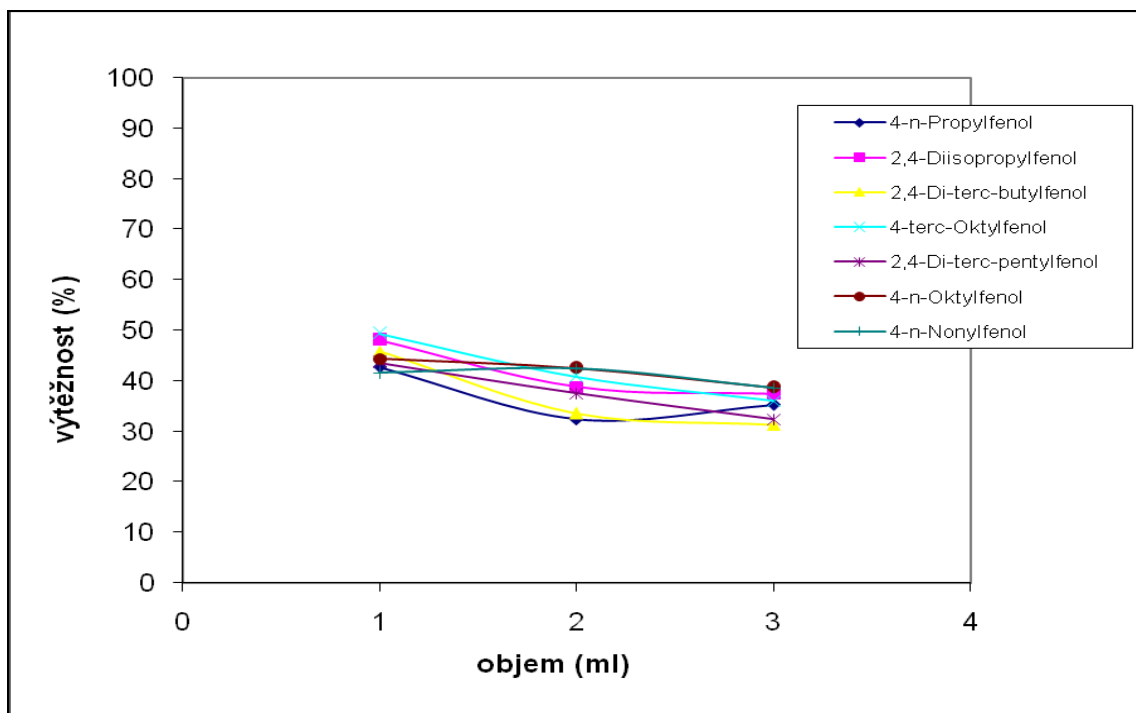
Graf č.4: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 101. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



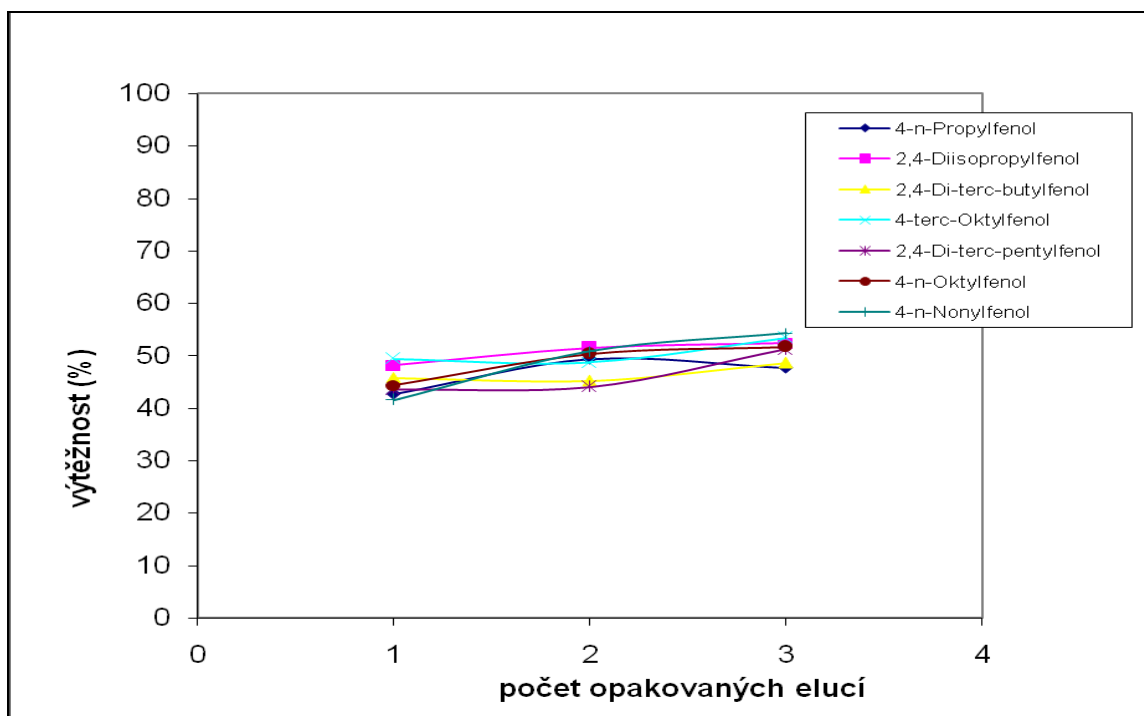
Graf č. 5: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba statické eluce methanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



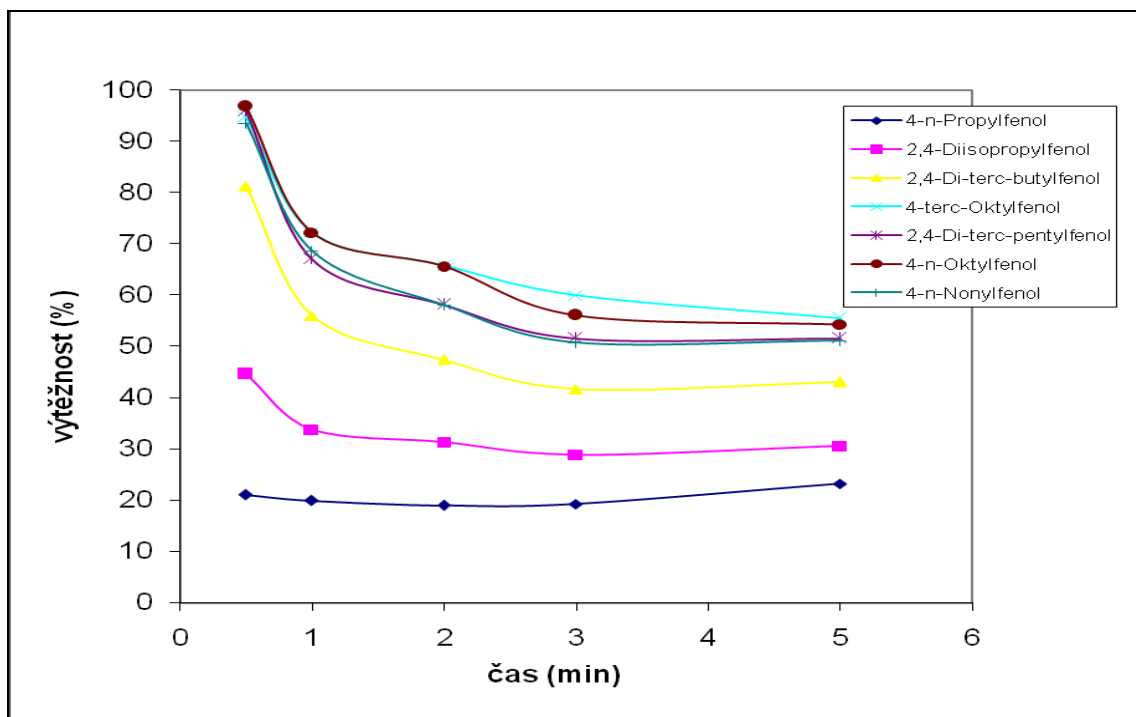
Graf č. 6: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba sorpce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



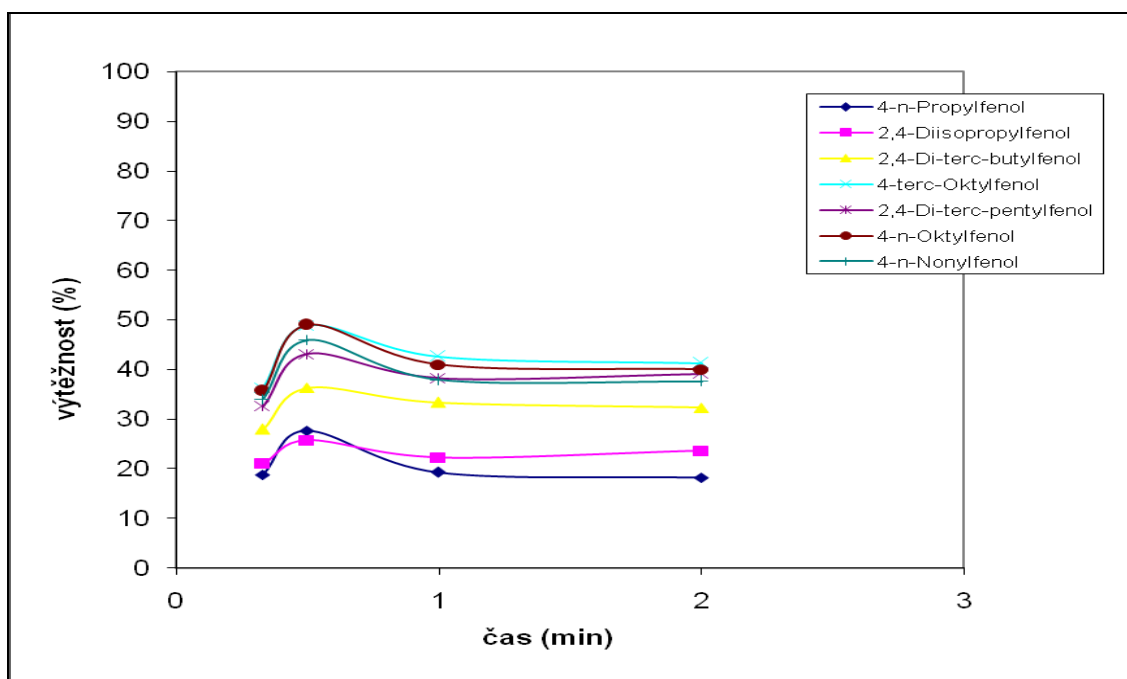
Graf č.7: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 2 min, počet opakovaných elucí – 1x.



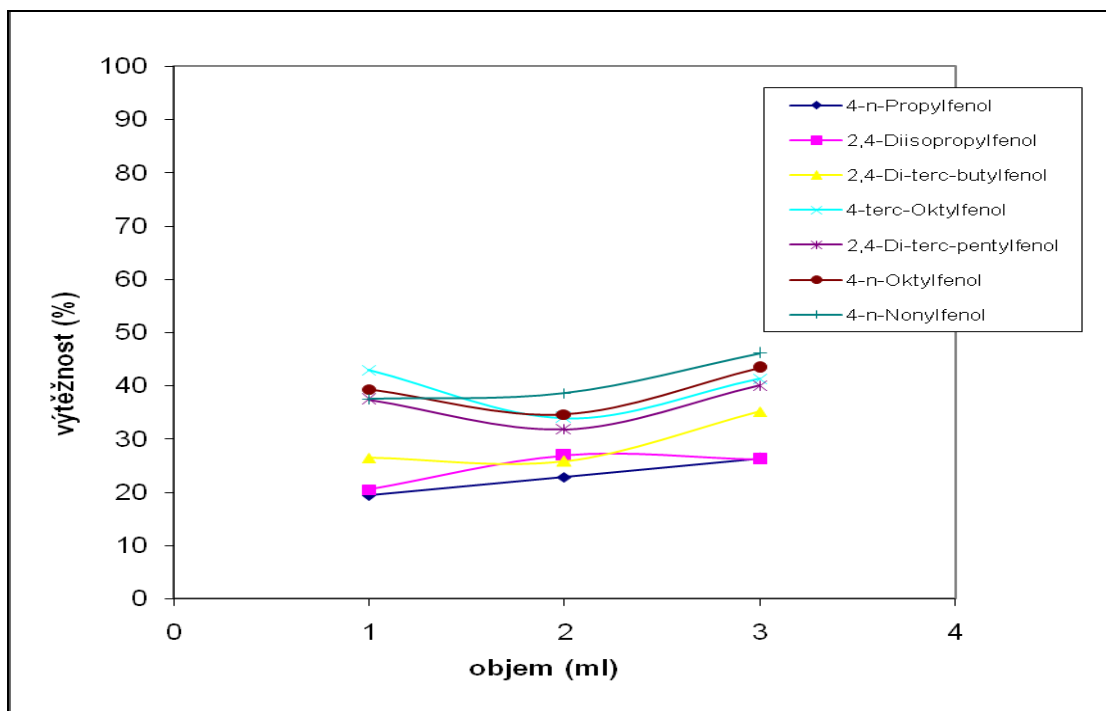
Graf č.8: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 102. Doba sorpce – 2 min, doba statické eluce – 2 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



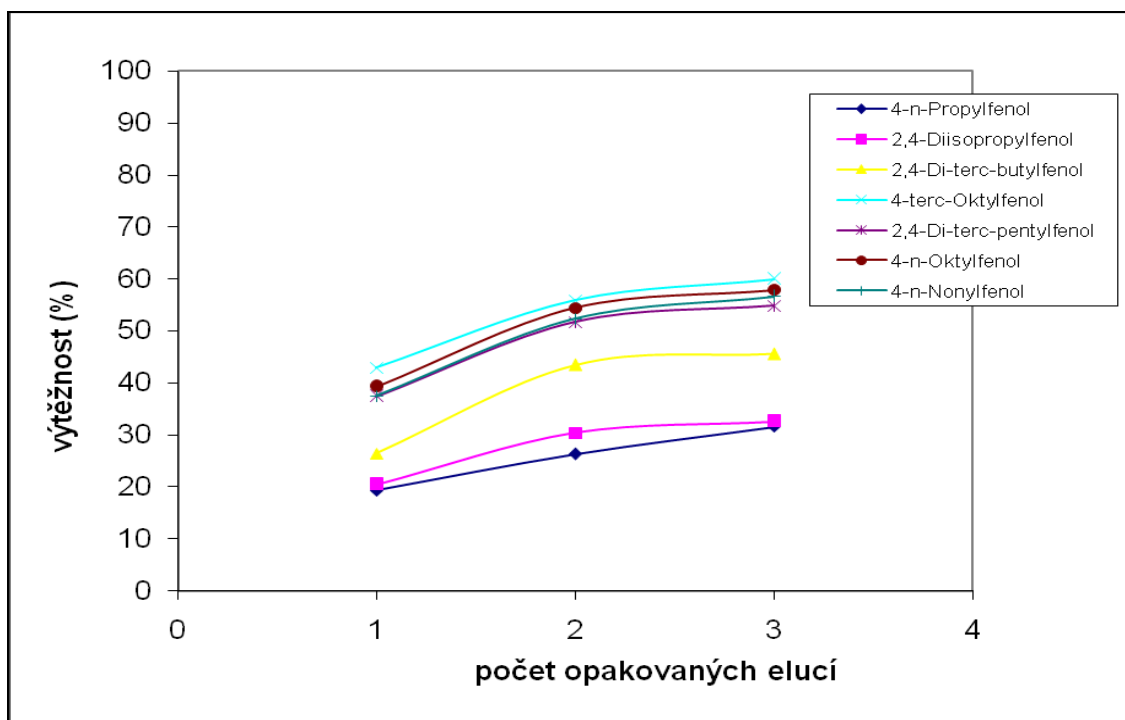
Graf č. 9: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



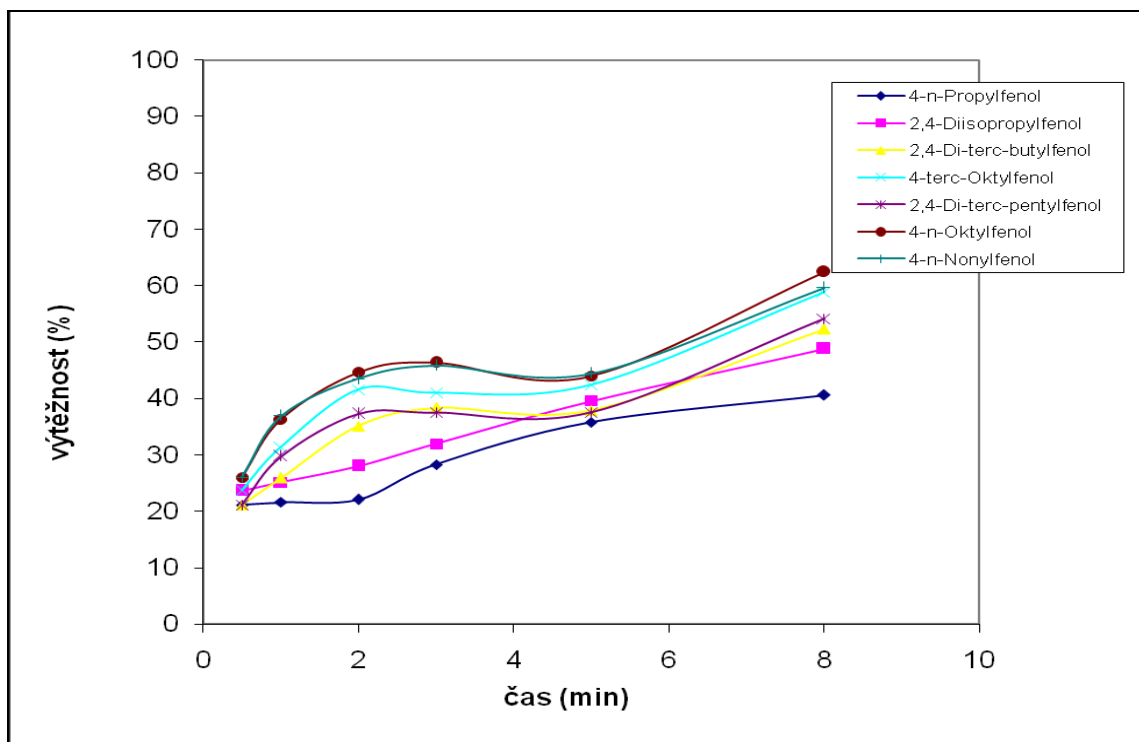
Graf č.10: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba sorpce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



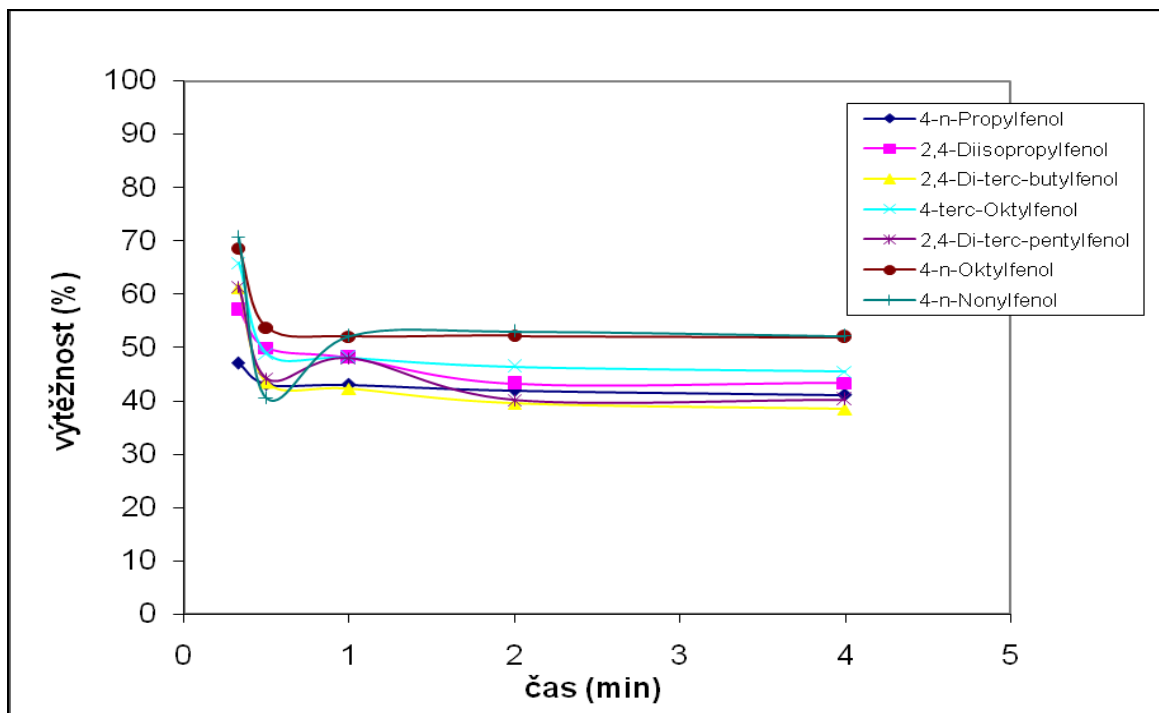
Graf č.11: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, počet opakovaných elucí – 1x.



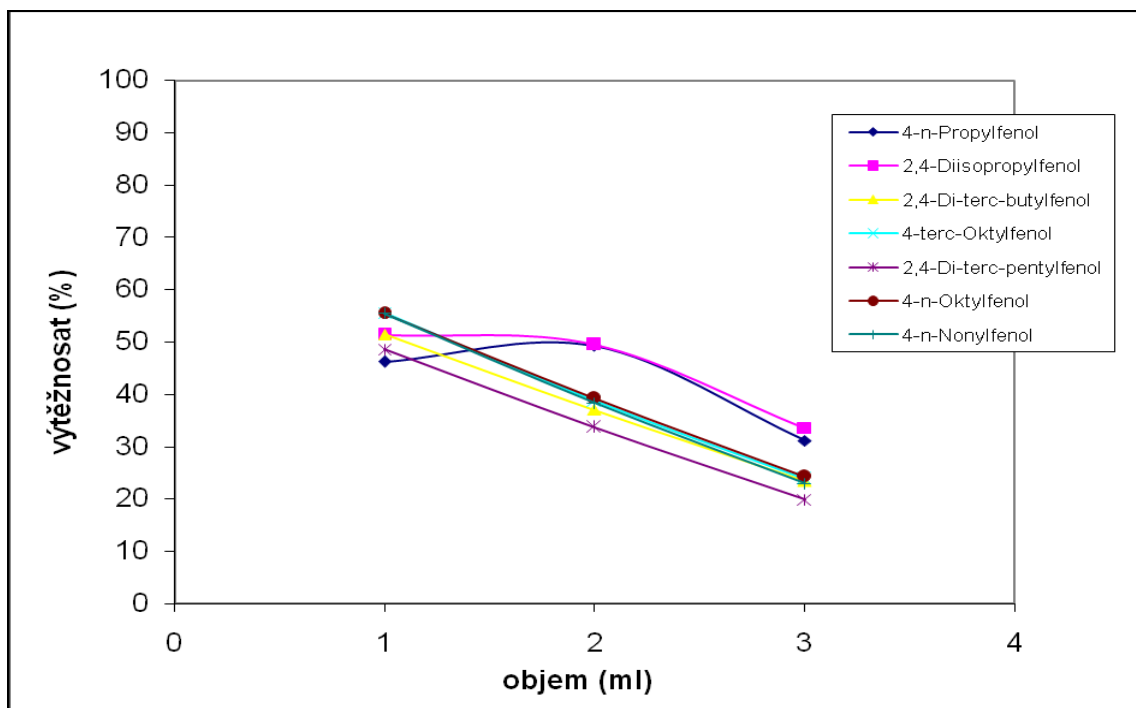
Graf č.12: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 104. Doba sorpce – 0,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



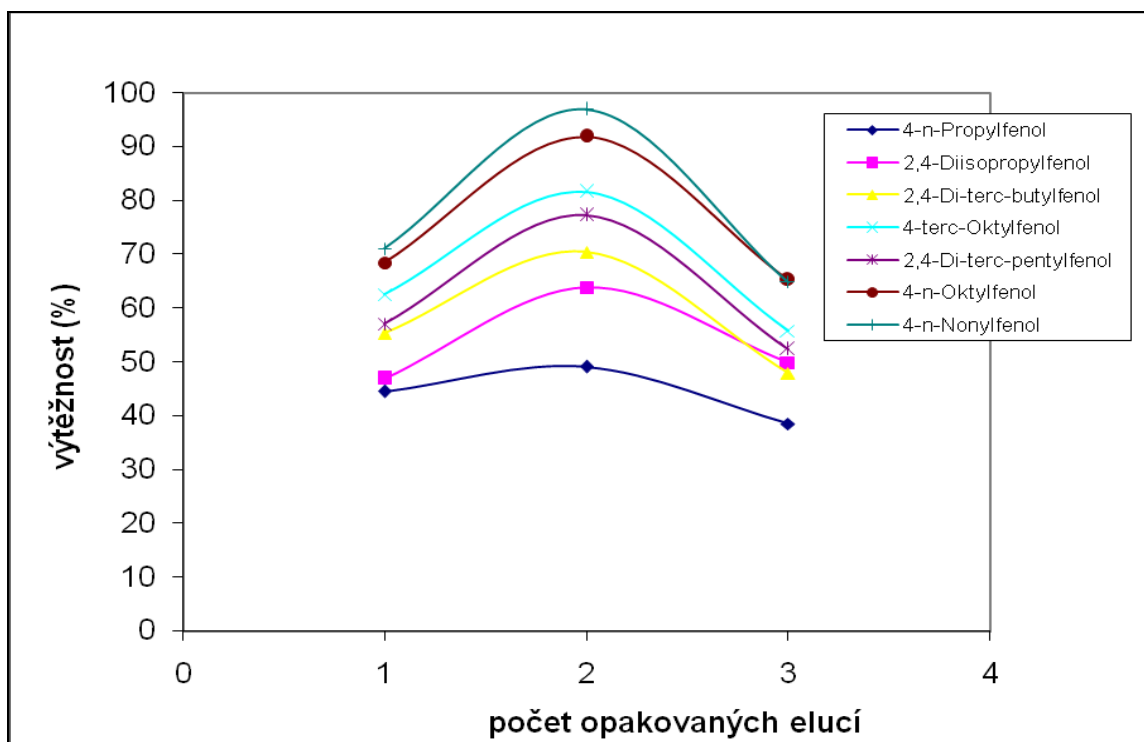
Graf č. 13: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



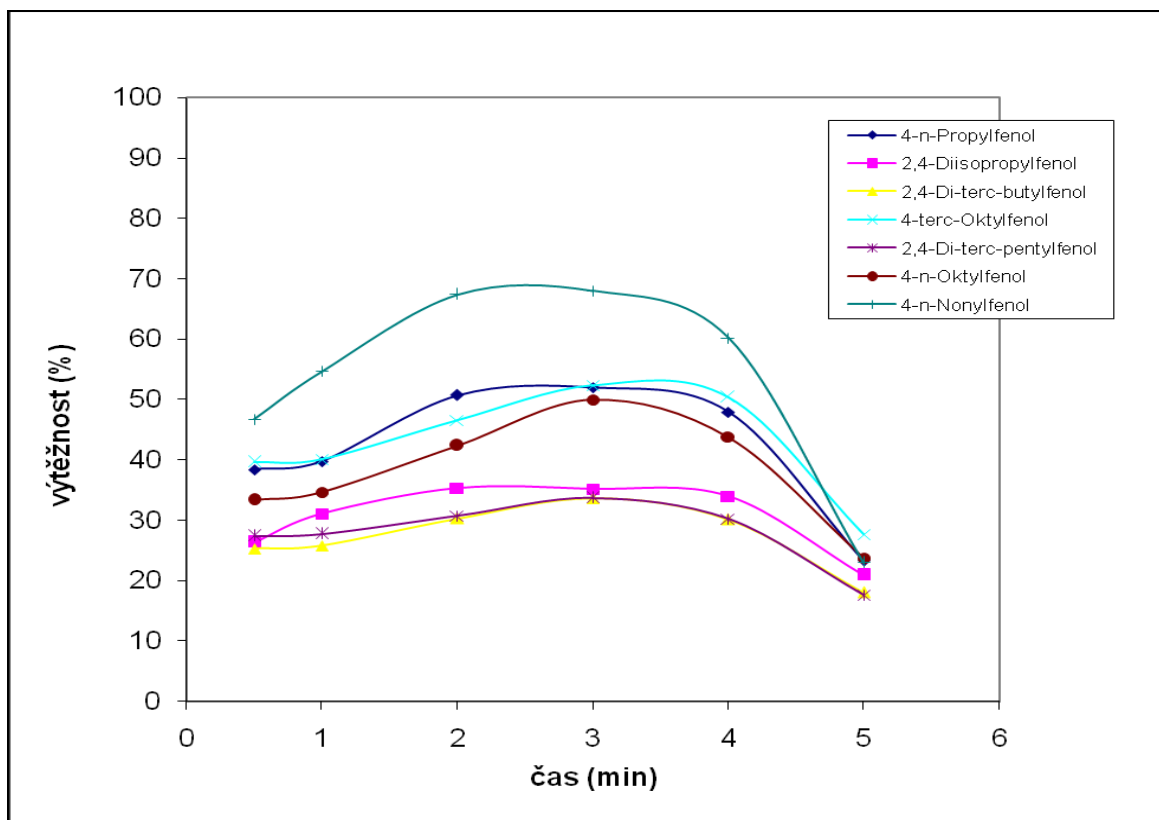
Graf č.14: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba sorpce – 6 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



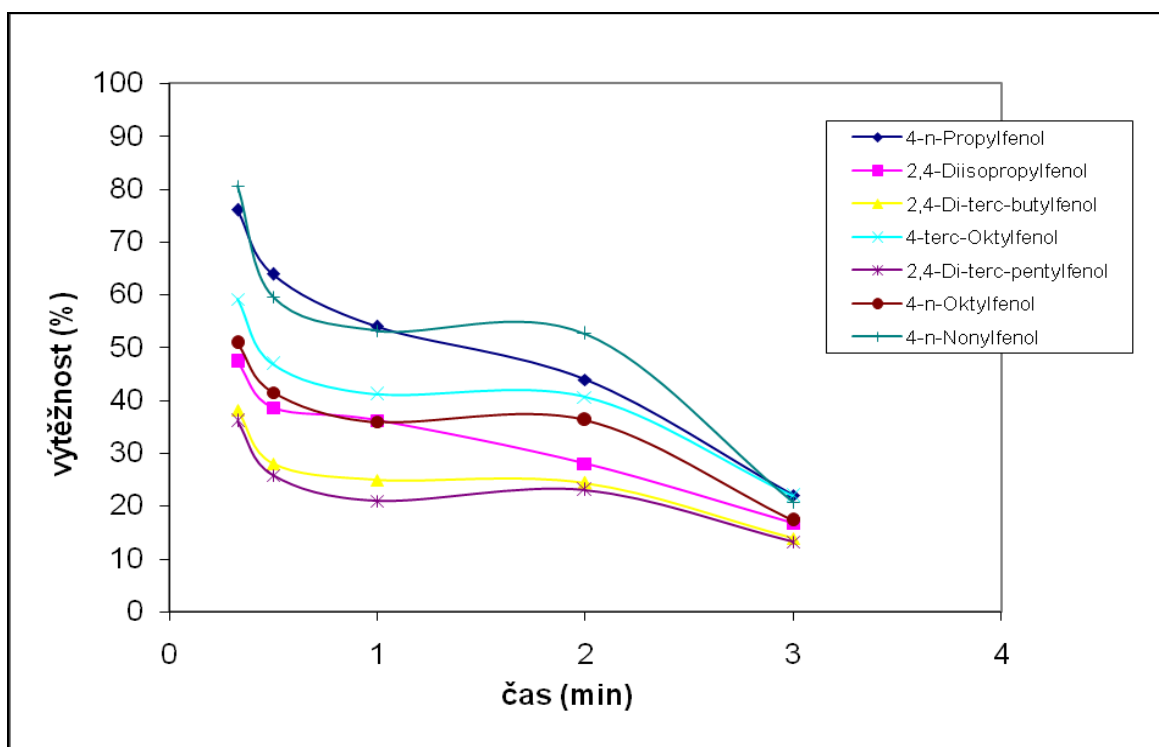
Graf č.15: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.



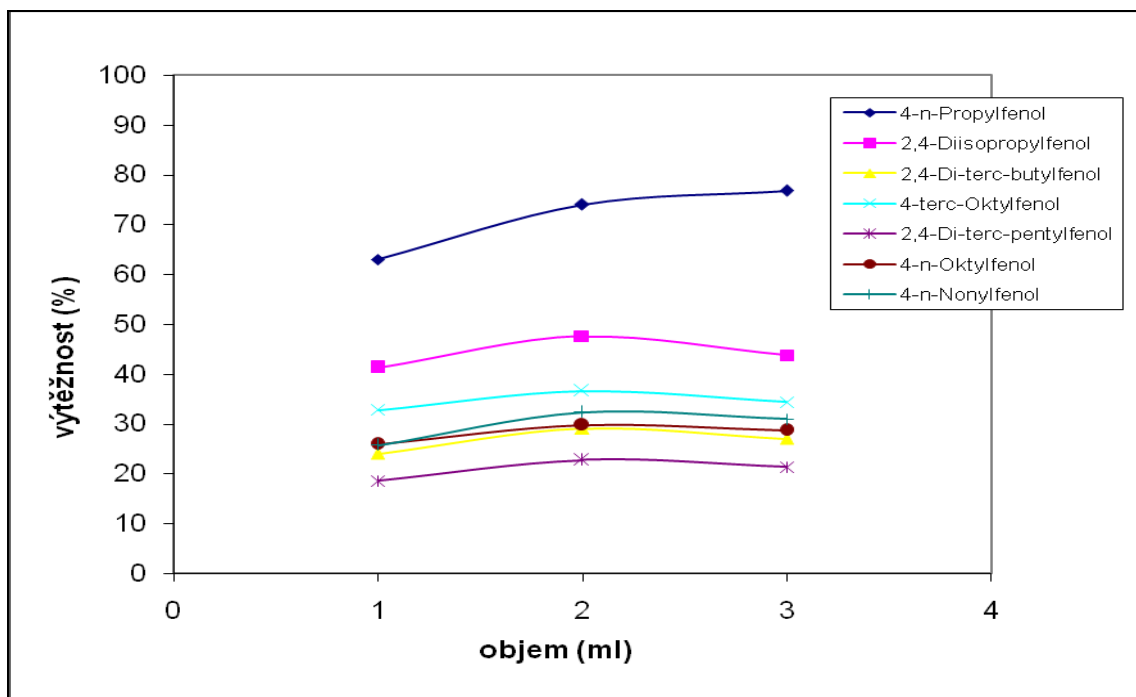
Graf č.16: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 105. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



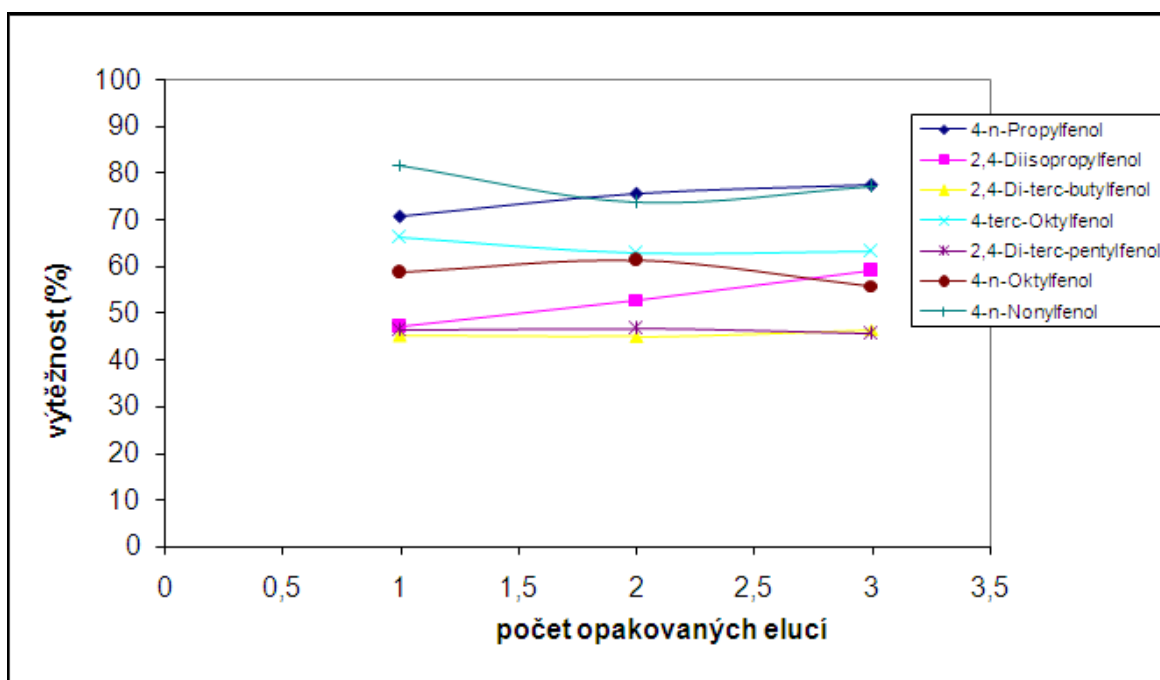
Graf č. 17: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



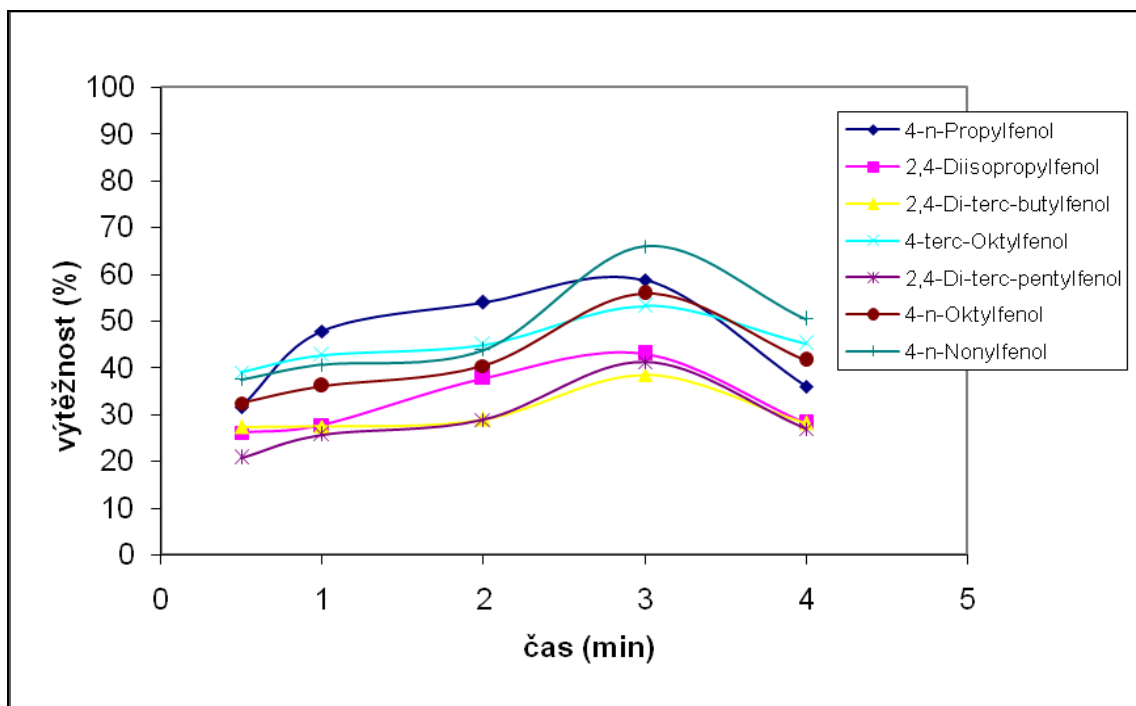
Graf č. 18: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba sorpce – 3 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



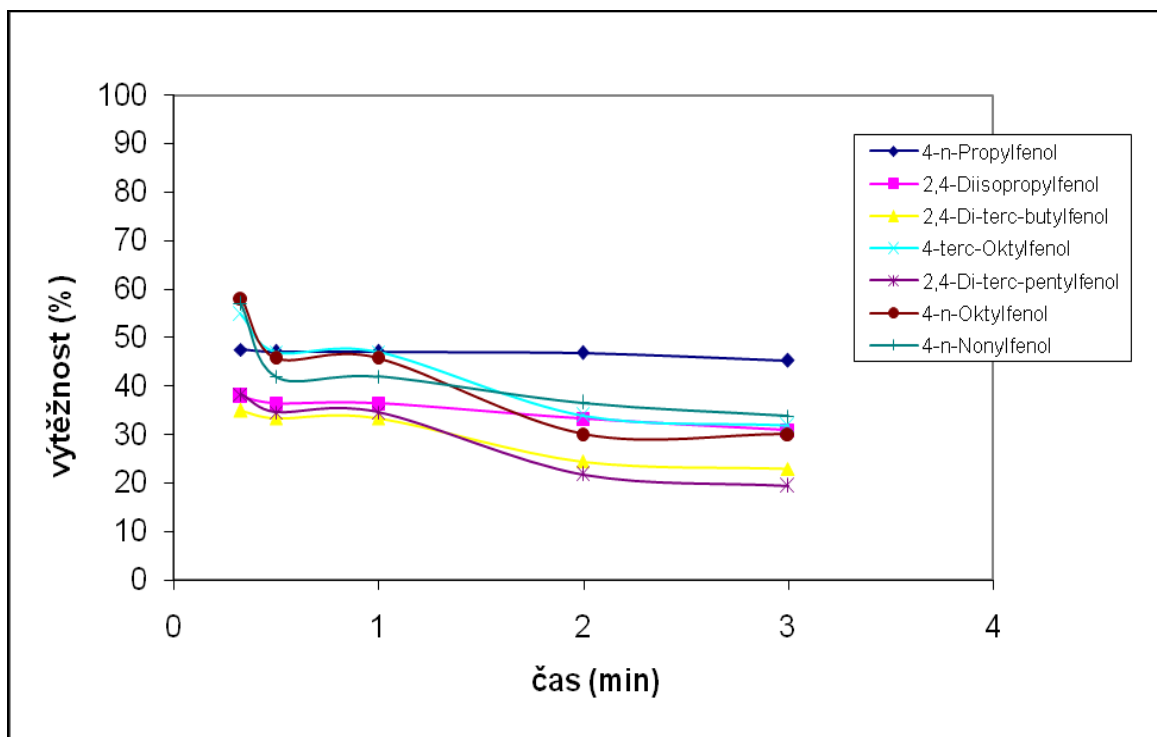
Graf č.19: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.



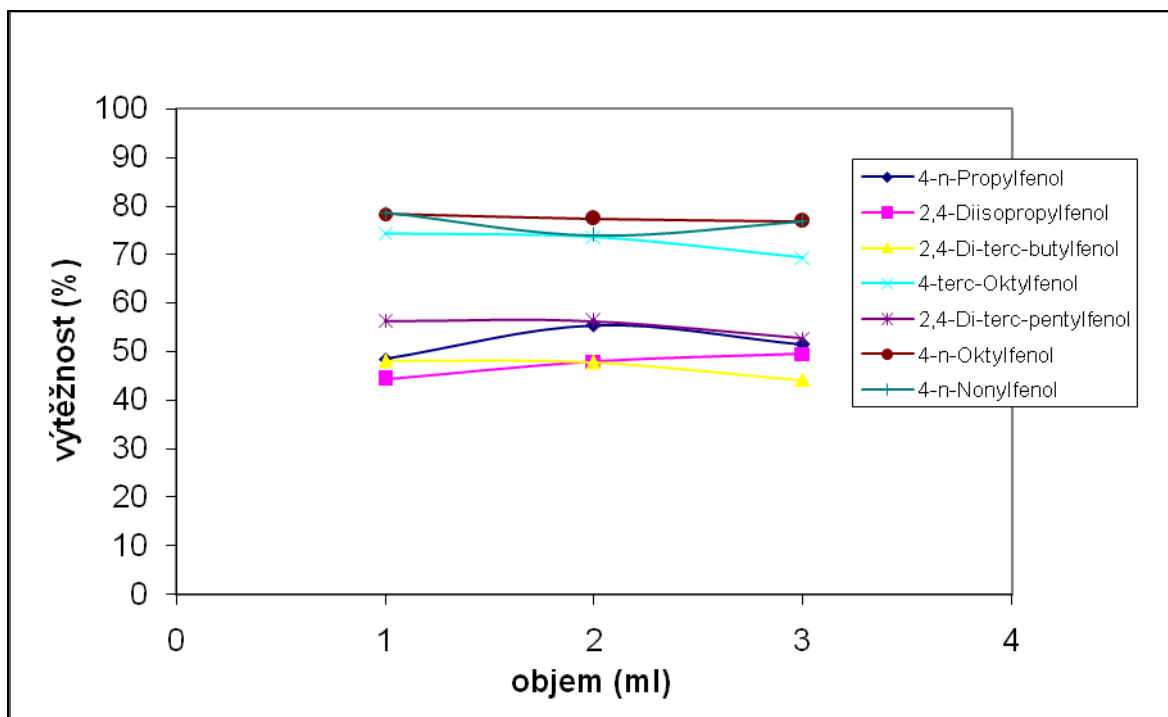
Graf č.20: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chromosorb 106. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



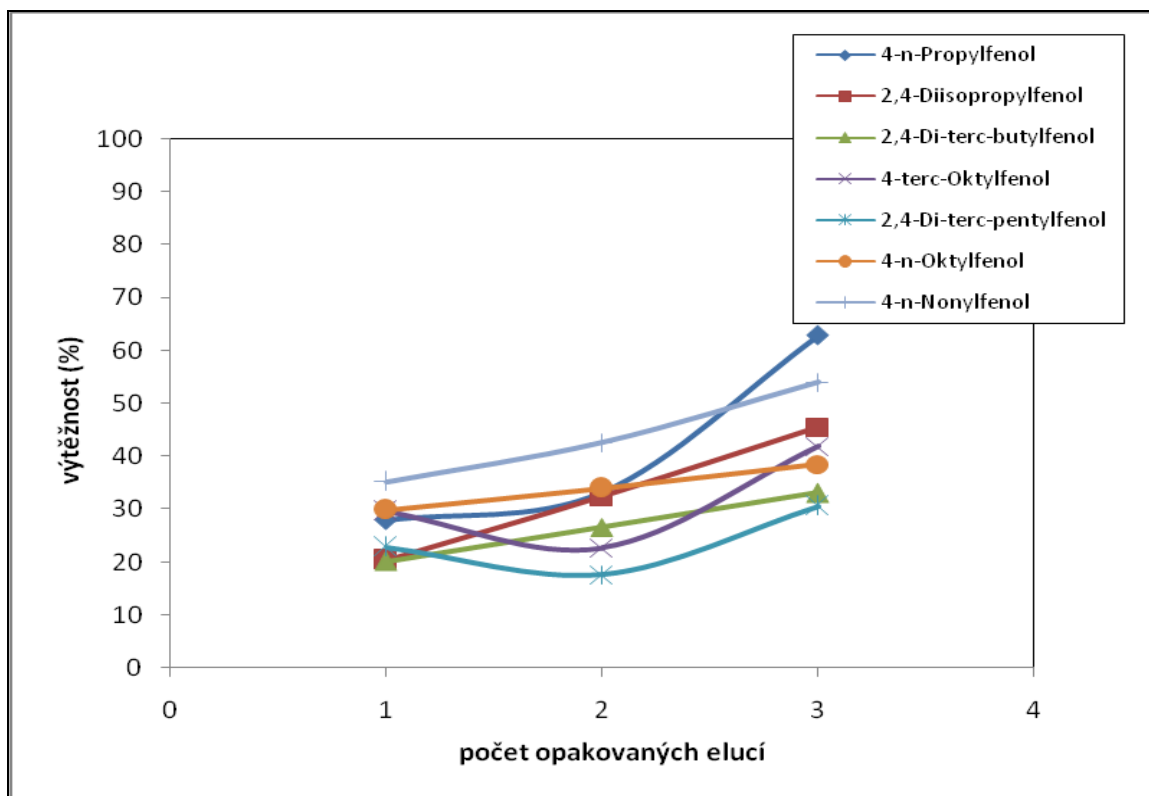
Graf č. 21: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



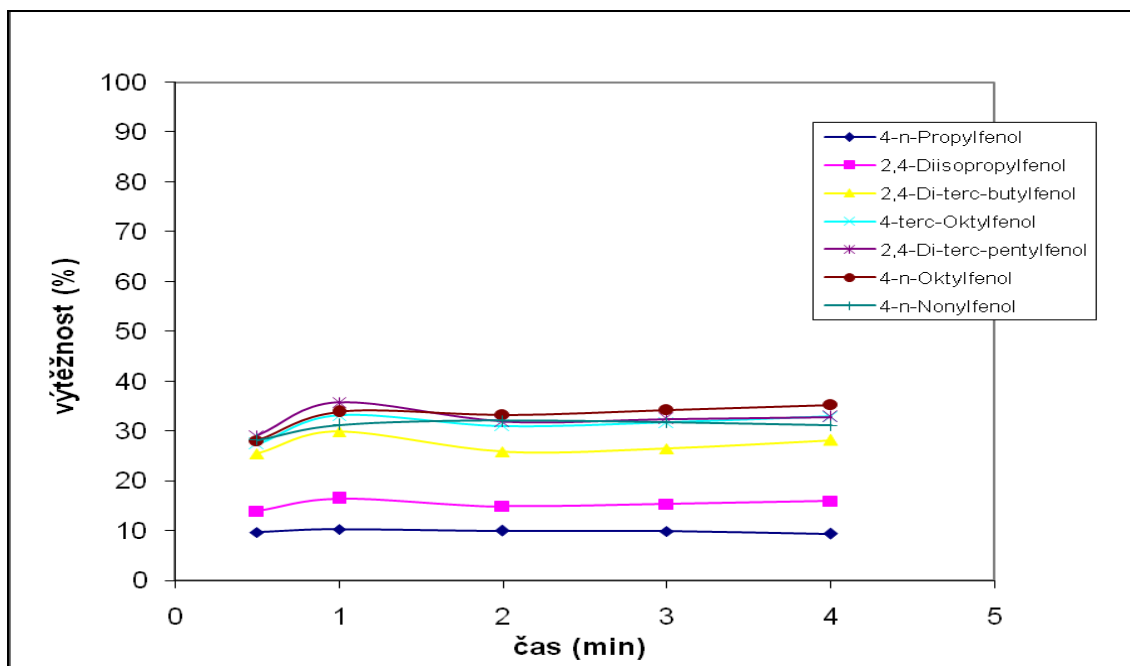
Graf č. 22: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba sorpce – 3 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



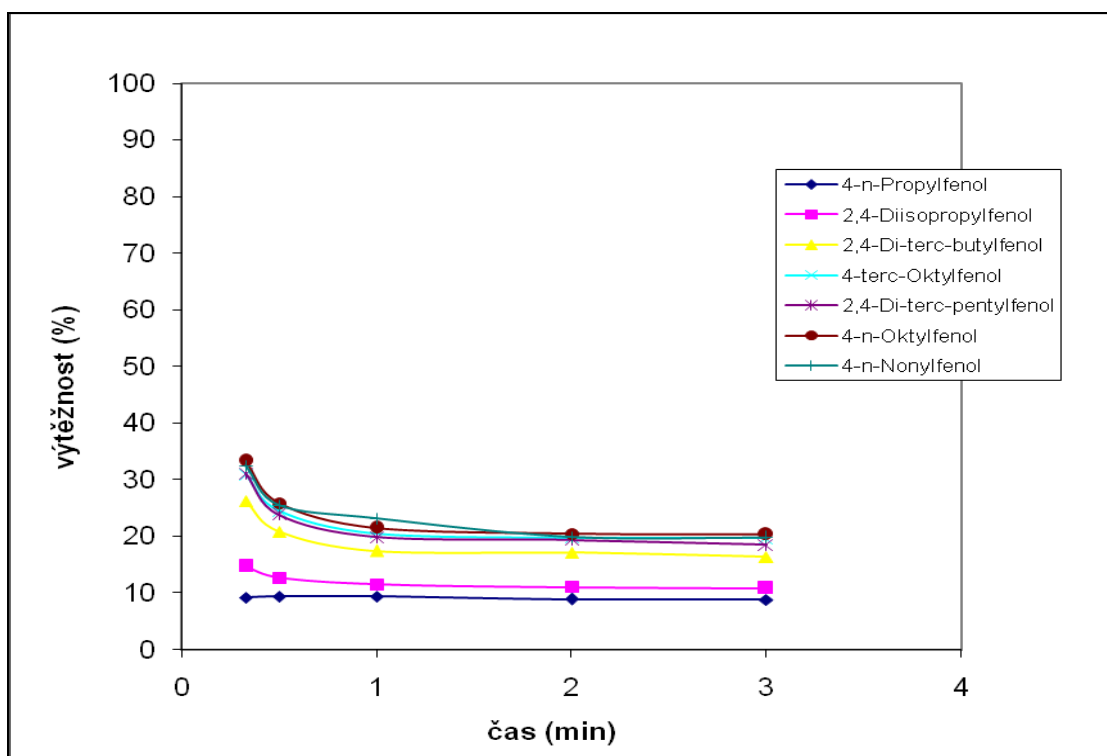
Graf č.23: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.



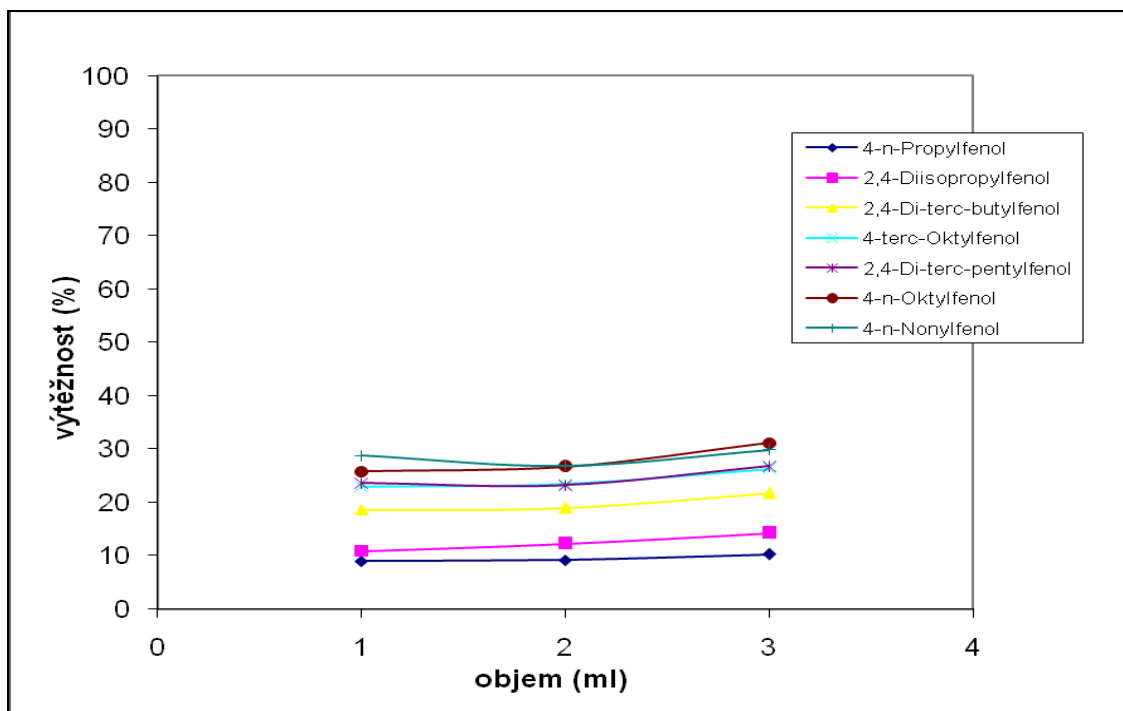
Graf č.24: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Porapak S. Doba sorpce – 3 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



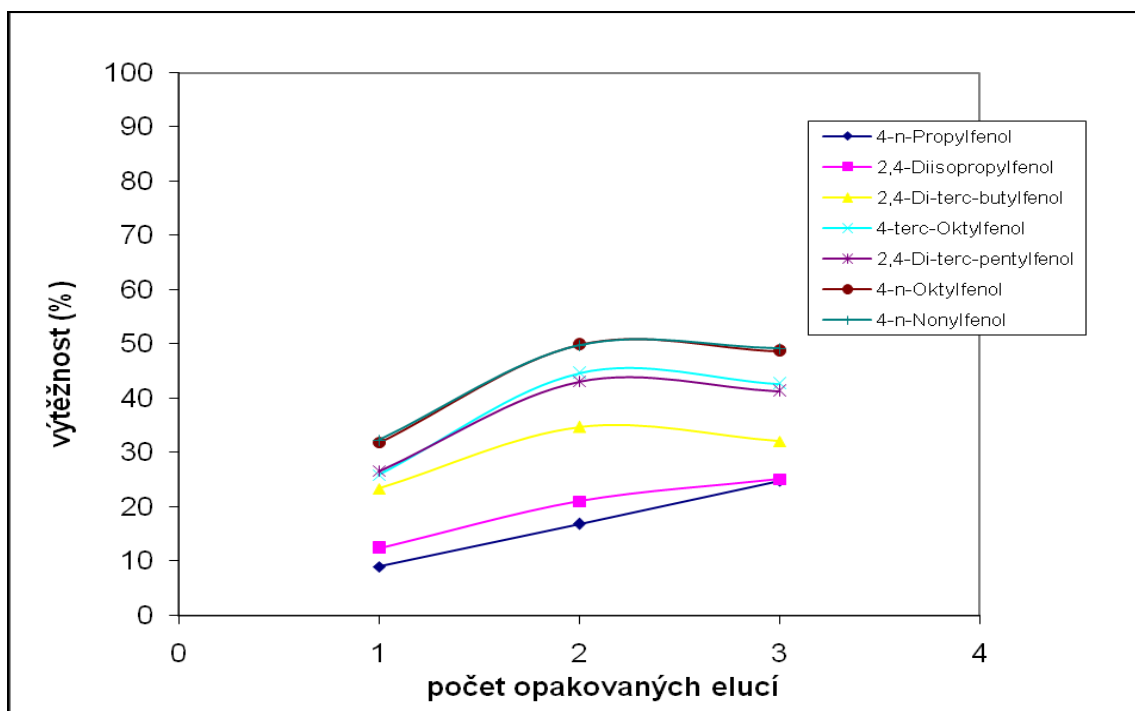
Graf č. 25: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



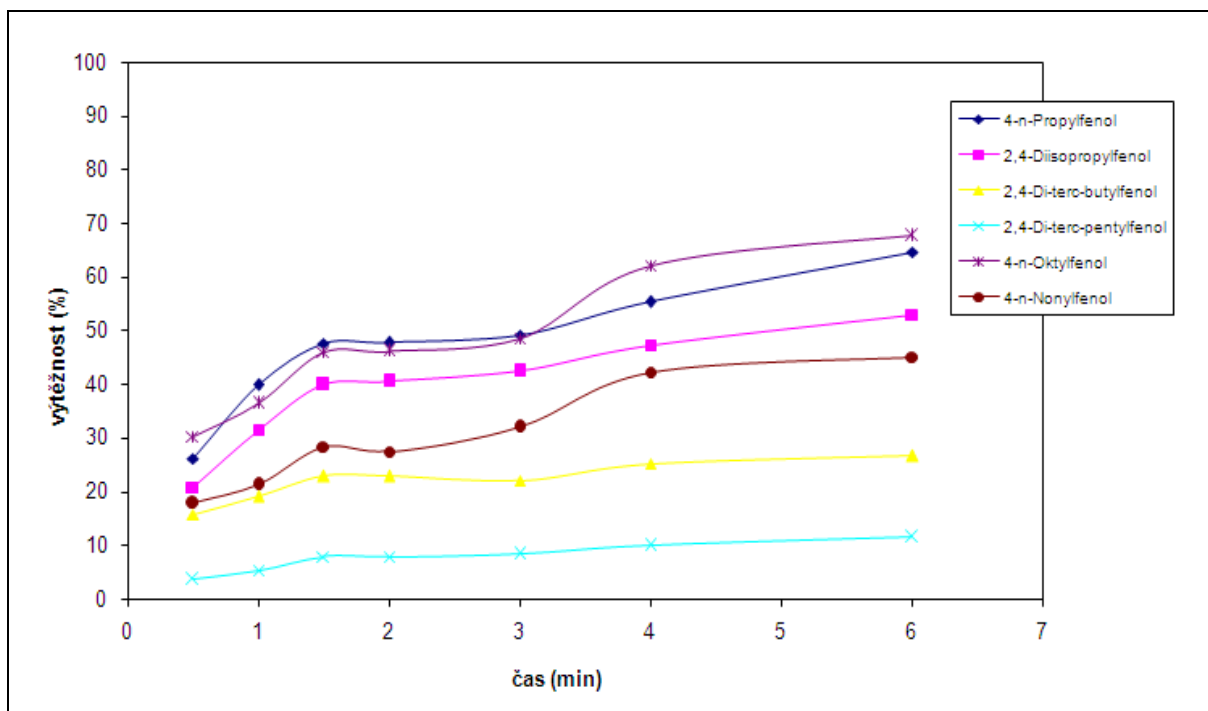
Graf č. 26: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba sorpce – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



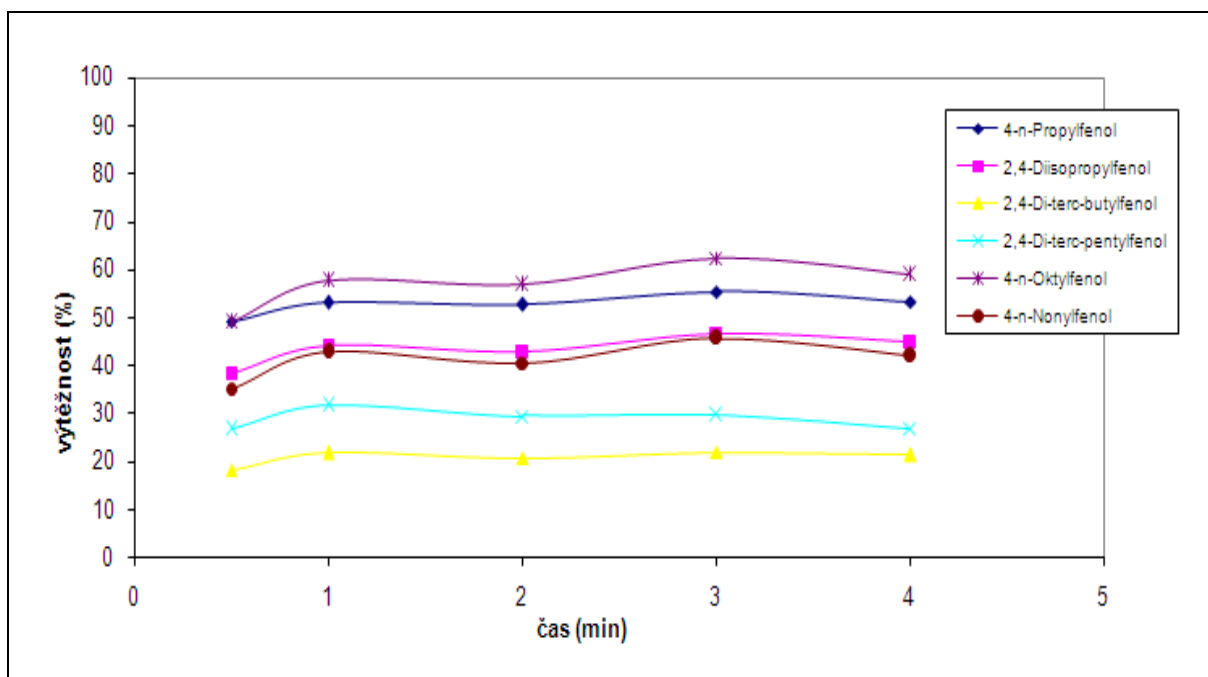
Graf č.27: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba sorpce – 1 min, doba statické eluce – 0,33 min, počet opakovaných elucí – 1x.



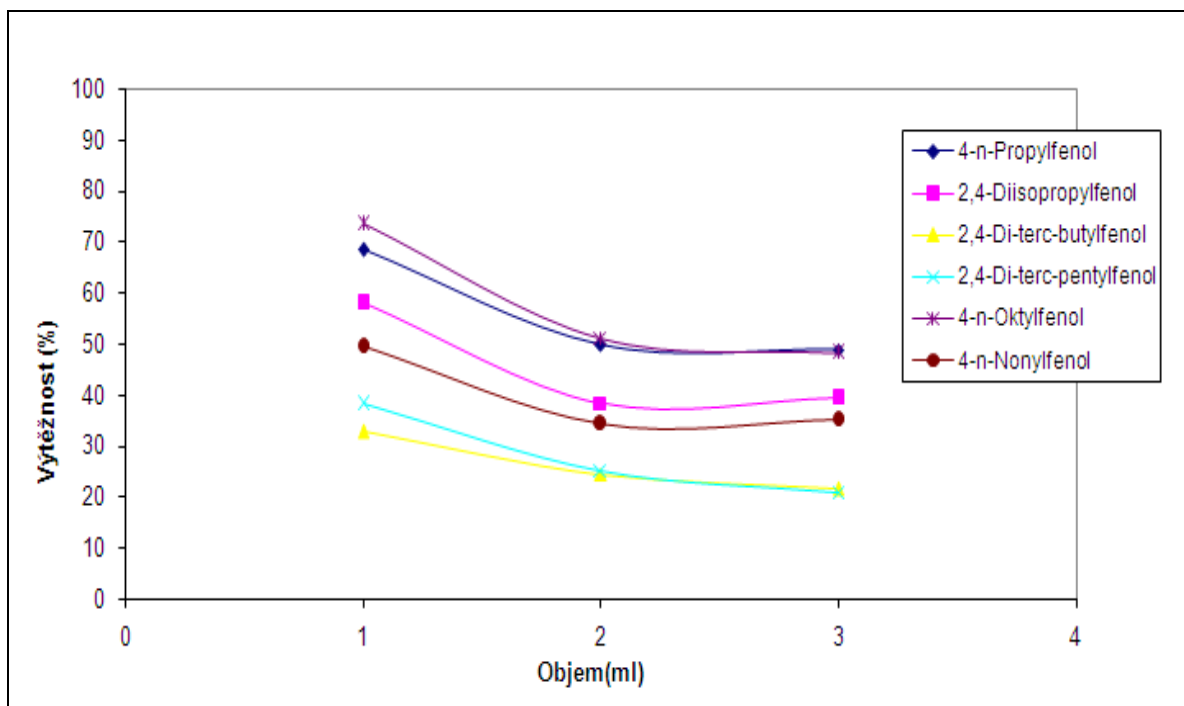
Graf č.28: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Tonsil. Doba sorpce – 1 min, doba statické eluce – 0,33 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



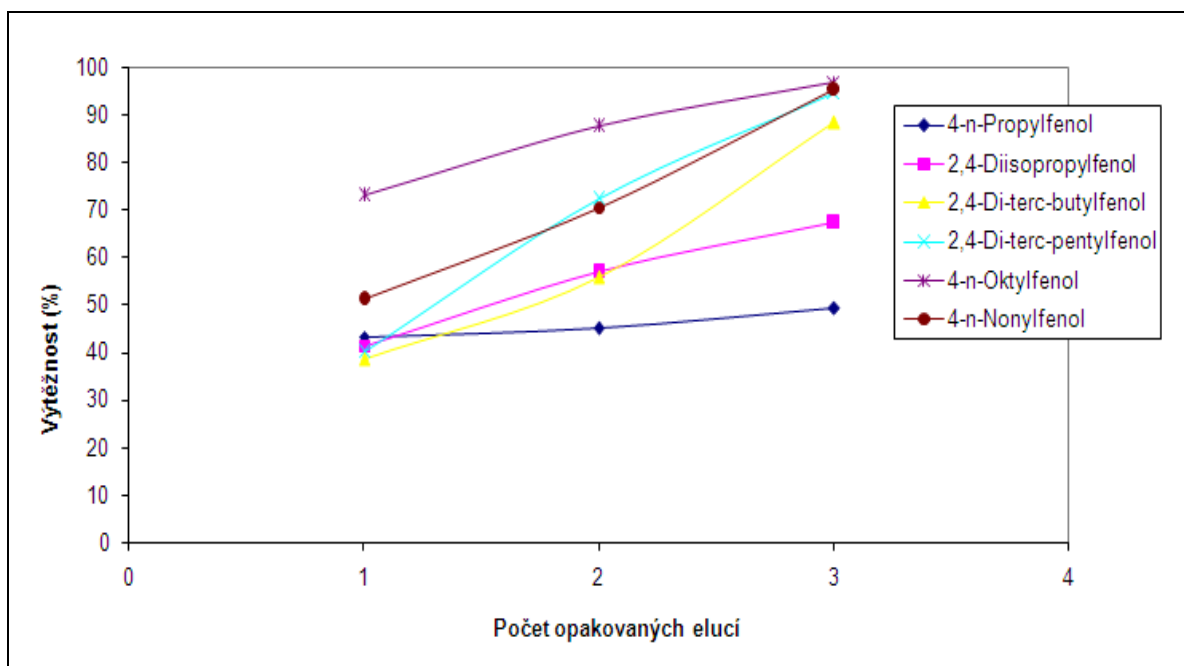
Graf č. 29: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



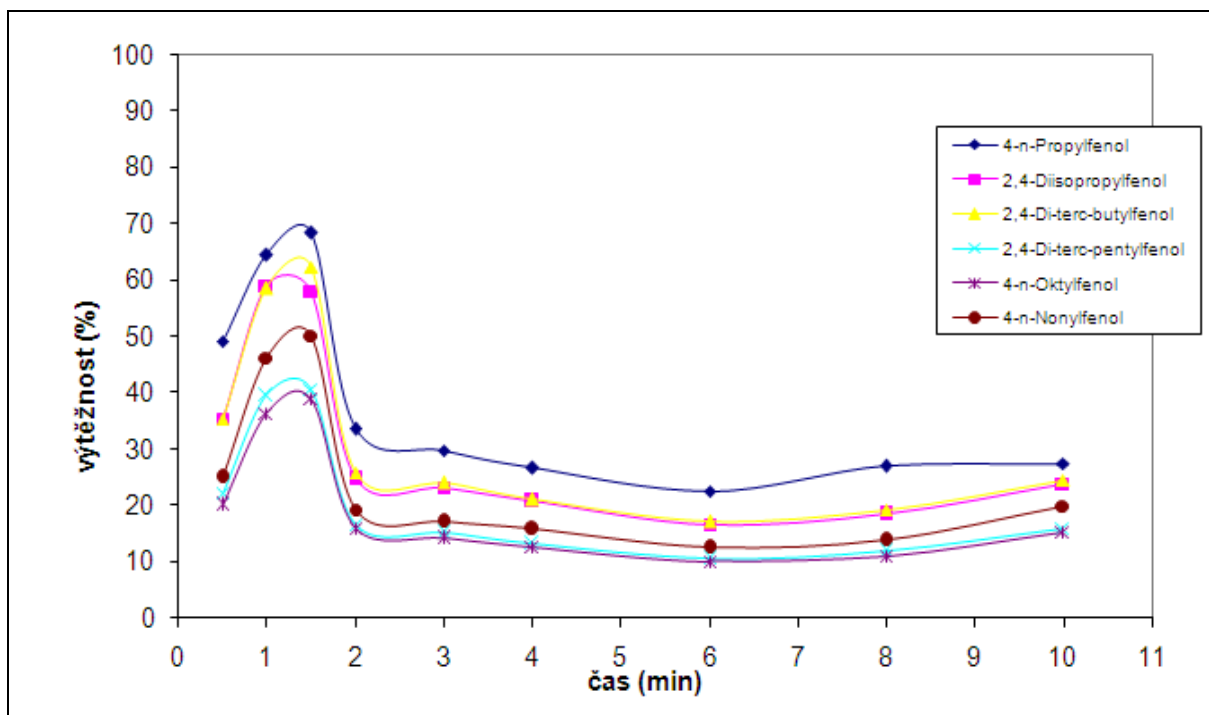
Graf č.30: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba sorpce – 6 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



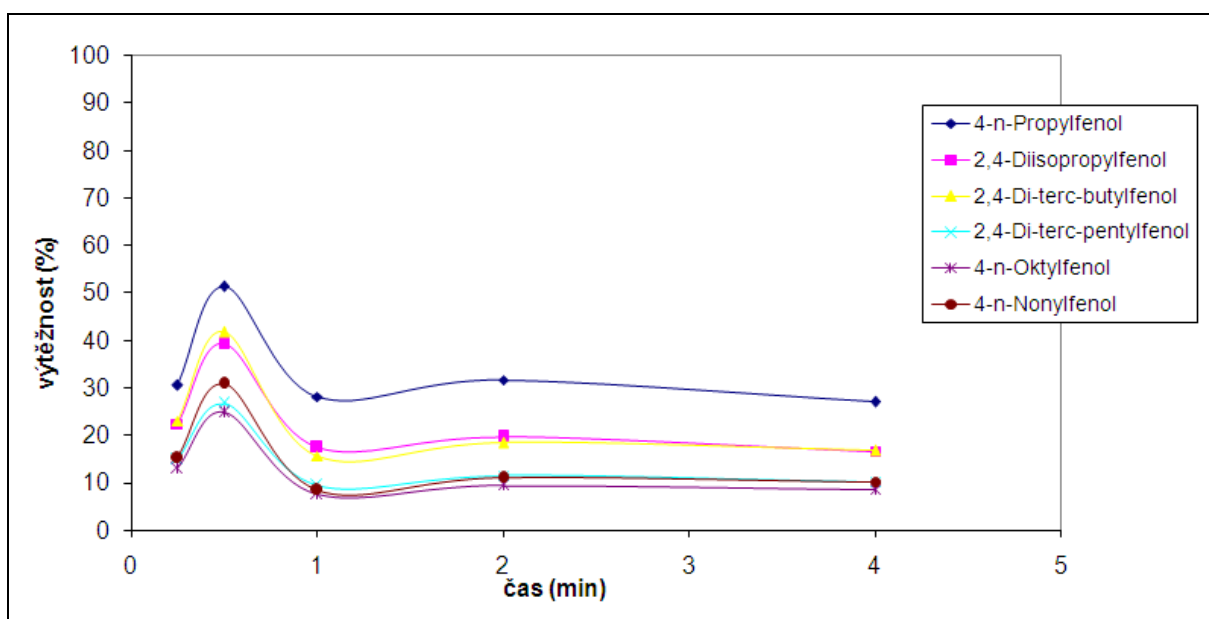
Graf č.31: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 3 min, počet opakovaných elucí – 1x.



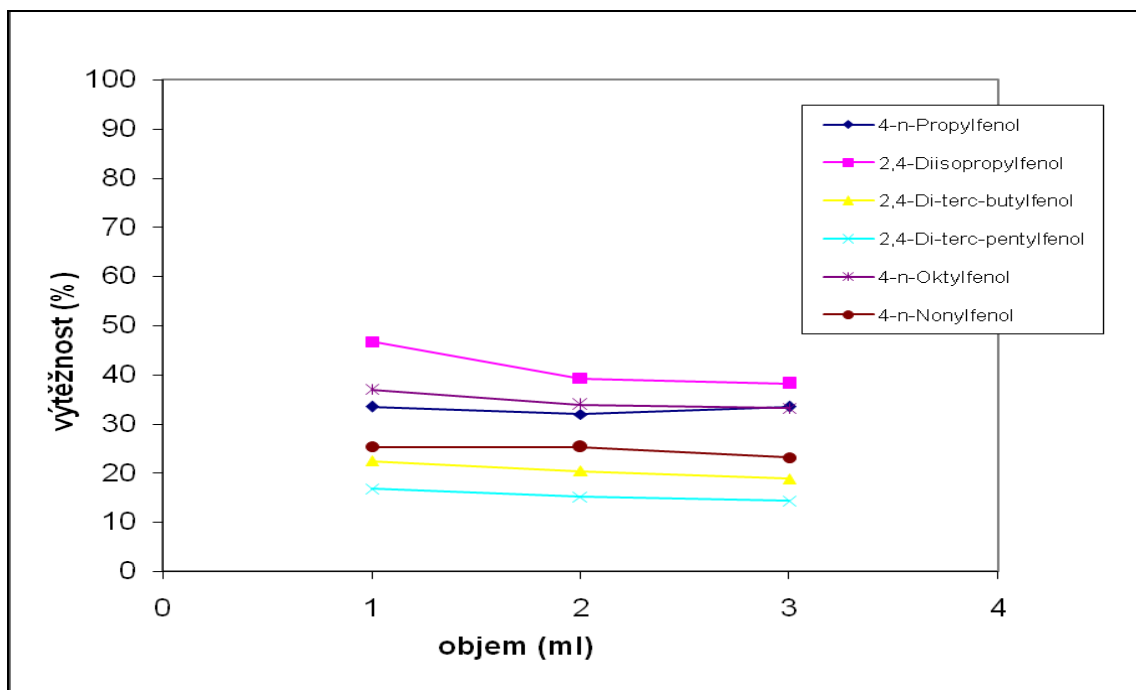
Graf č.32: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu PFO. Doba sorpce – 6 min, doba statické eluce – 3 min, množství rozpouštědla – 1 ml.



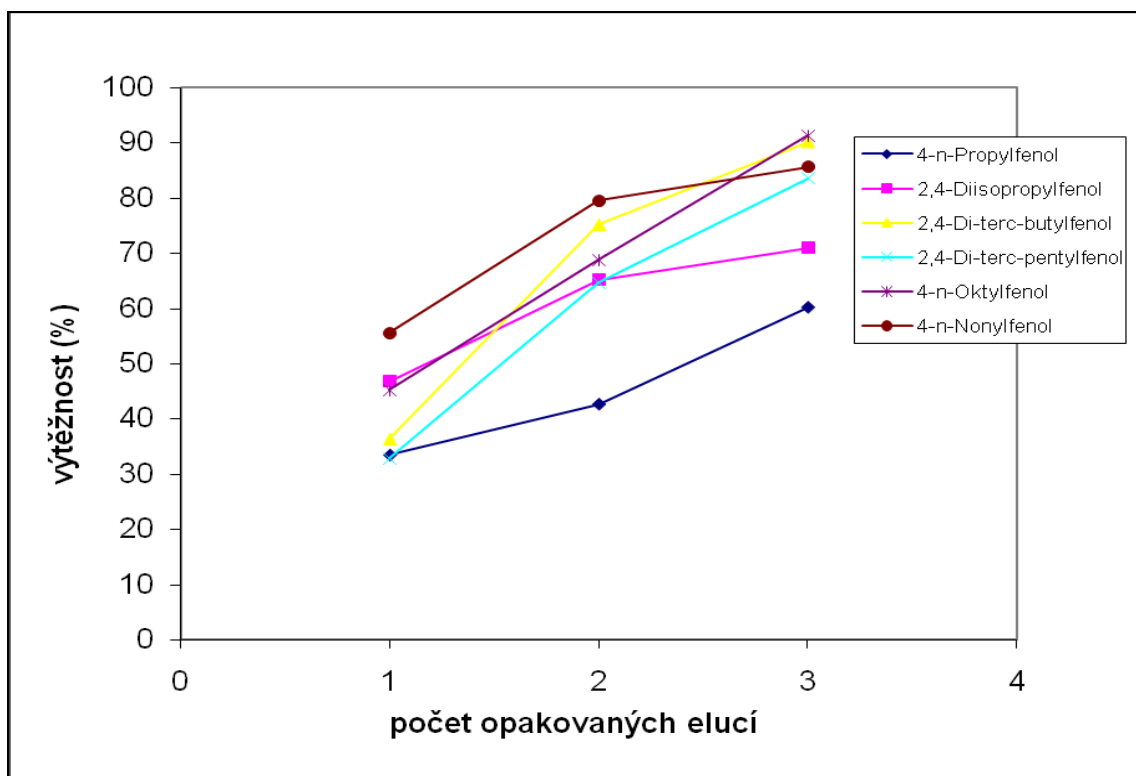
Graf č. 33: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době sorpce na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb S. Doba statické eluce metanolem – 1 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.



Graf č.34: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na době statické eluce na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb S. Doba sorpce – 1,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml, počet opakovaných elucí – 1x.

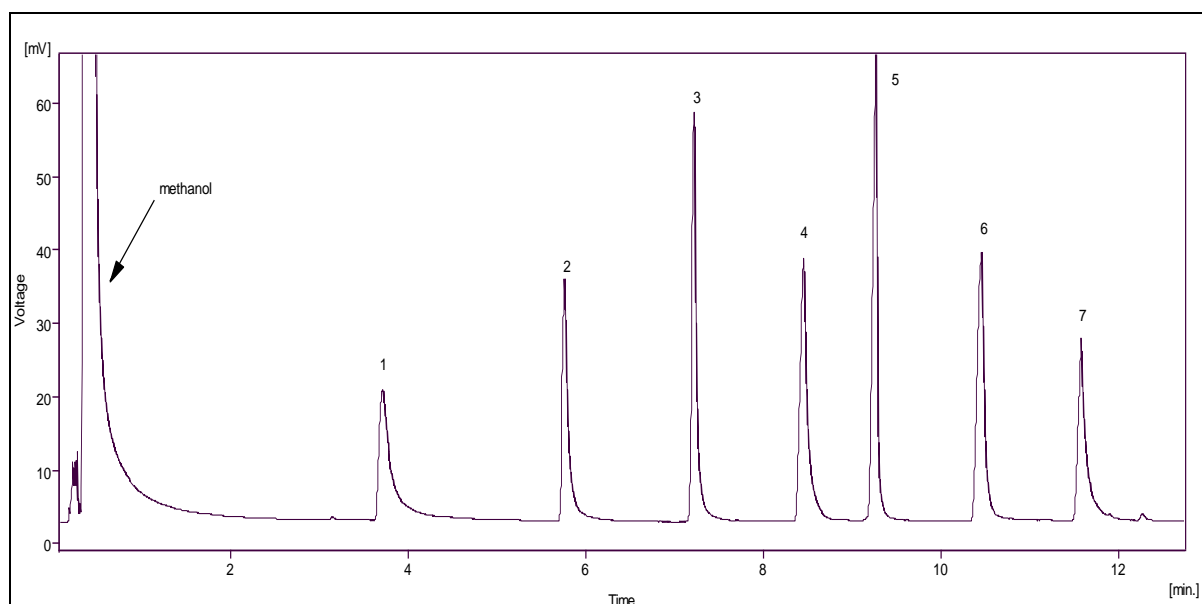


Graf č.35: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na množství použitého methanolu na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb S. Doba sorpce – 1,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, počet opakovaných elucí – 1x.

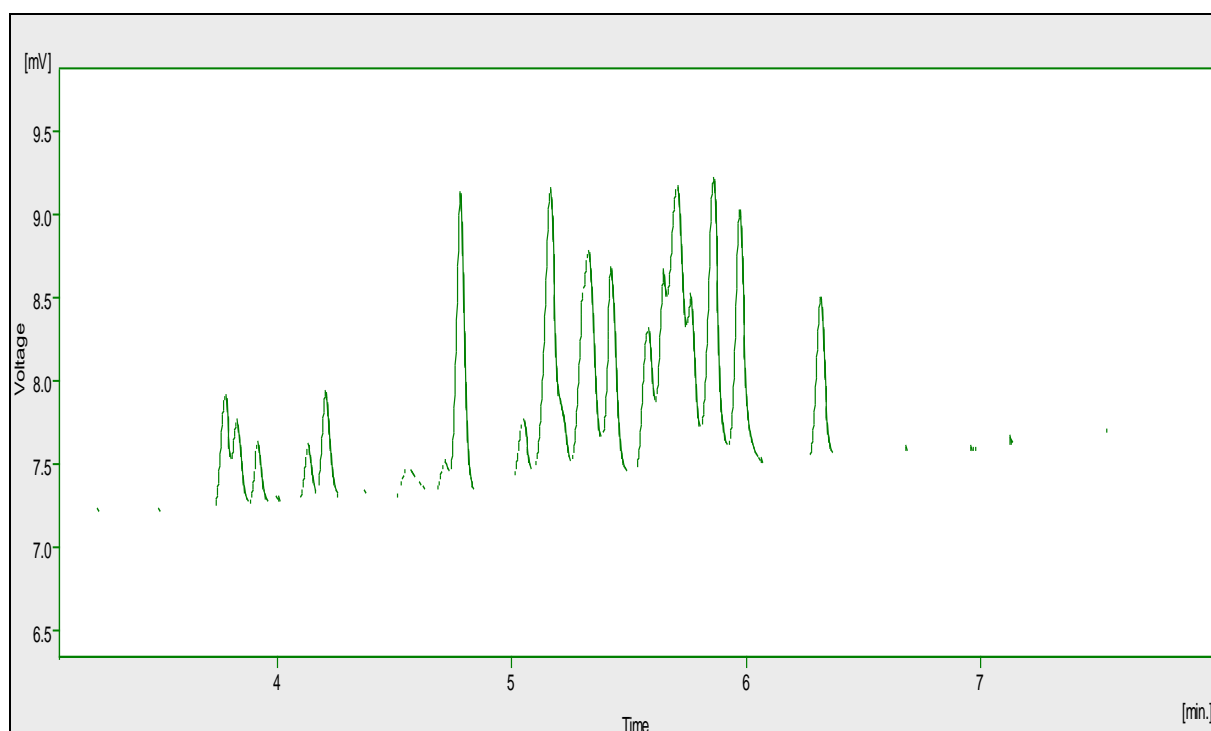


Graf č.36: Závislost výtěžnosti extrakce modelové směsi alkylfenolů z vody na počtu opakovaných elucí na magneticky modifikovaném sorbentu Chezacarb S. Doba sorpce – 1,5 min, doba statické eluce – 0,5 min, množství rozpouštědla – 1 ml.

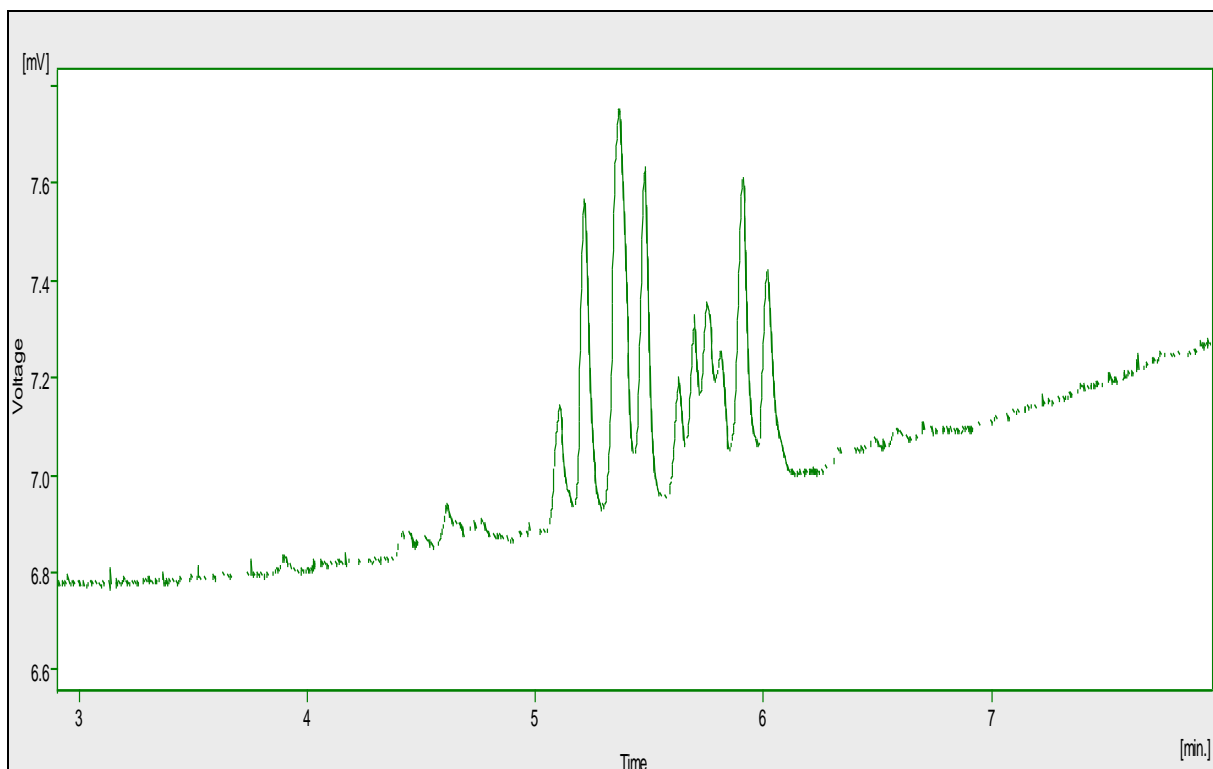
7.3 Chromatogramy



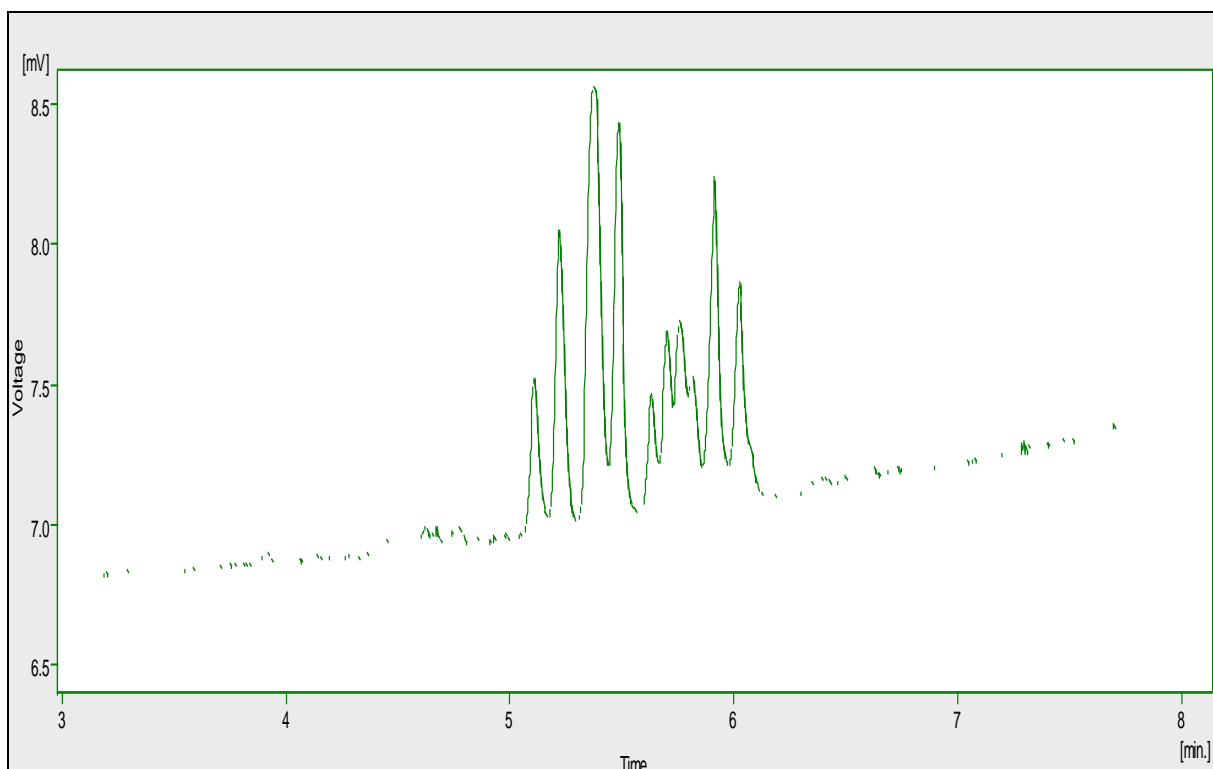
Obr.1: Chromatogram ze separace modelové směsi alkylfenolů (1. 4-*n*-propylfenol, 2. 2,4-diisopropylfenol, 3. 2,4-di-*terc*-butylfenol, 4. 4-*terc*-oktylfenol, 5. 2,4-di-*terc*-pentylfenol, 6. 4-*n*-oktylfenol, 7. 4-*n*-nonylfenol) za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3.



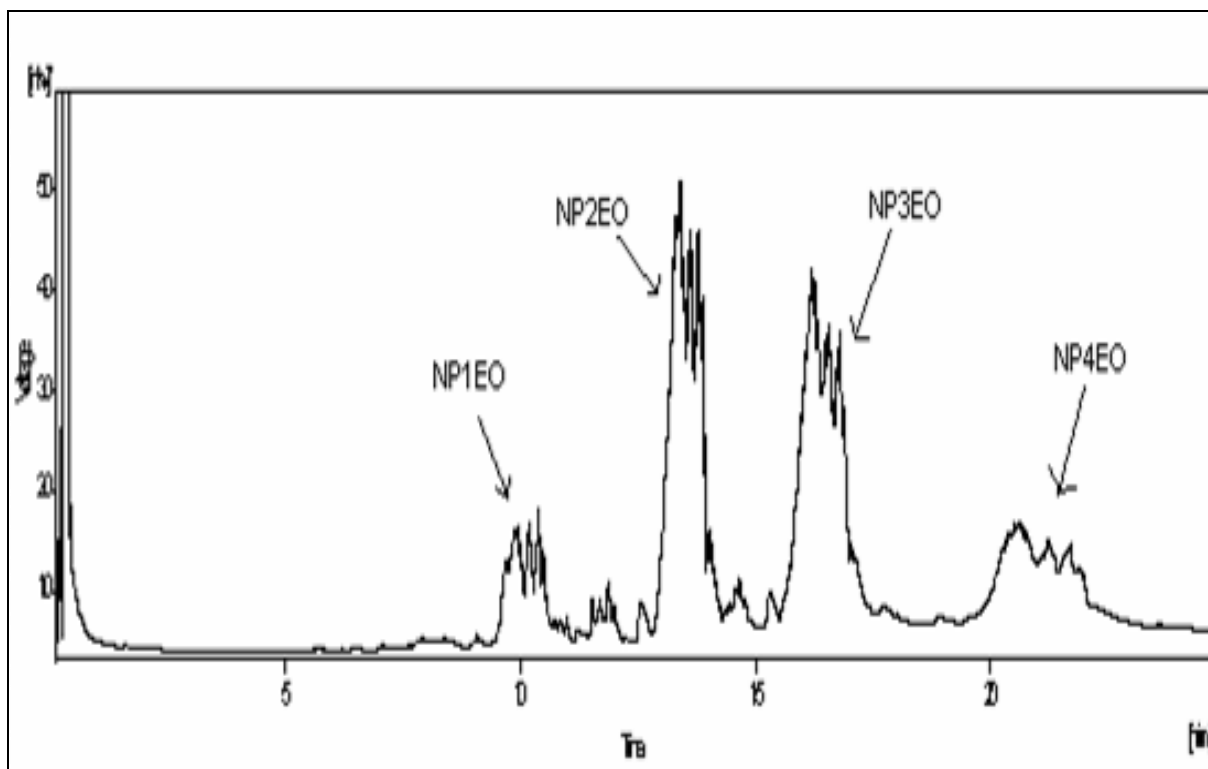
Obr.2: Chromatogram z analýzy technické směsi nonylfenolů (Sloveca) používaných jako výchozí surovina k výrobě oxyethylenovaných nonylfenolů za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3.



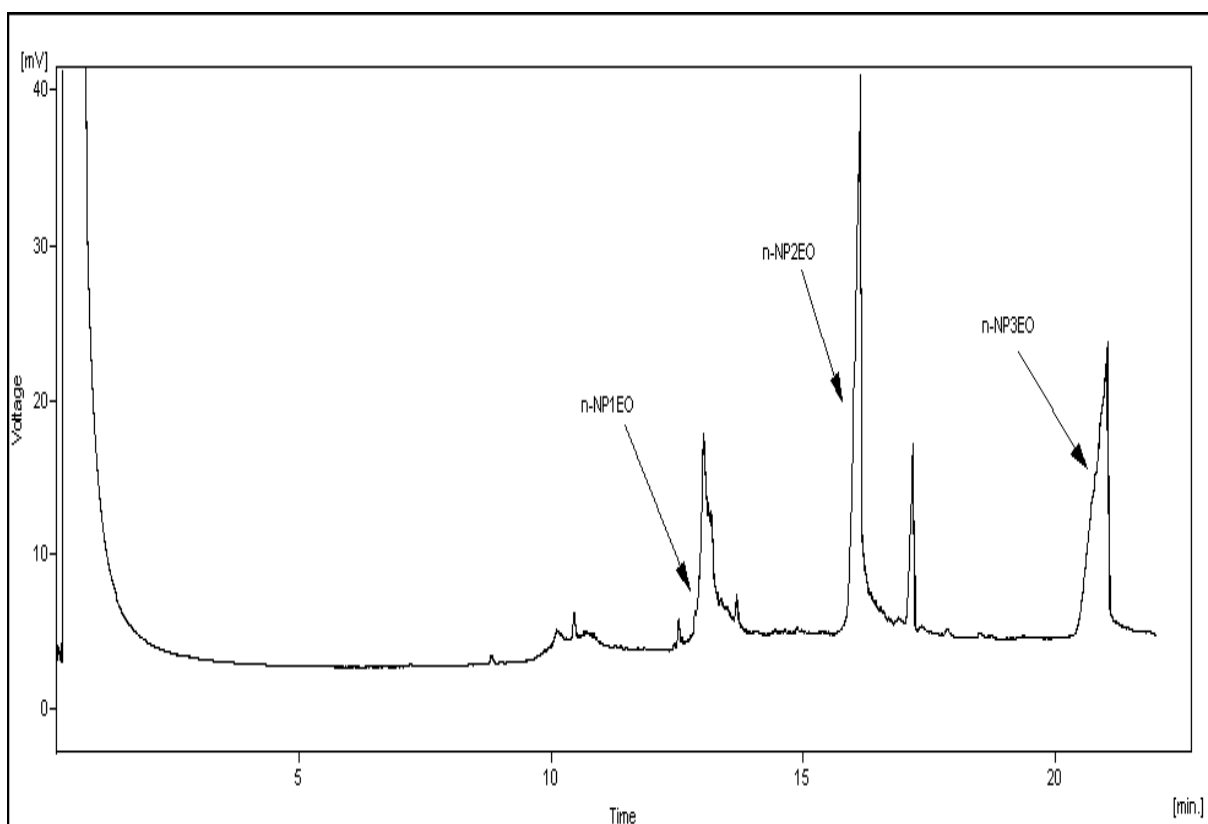
Obr.3. Chromatogram z analýzy technické směsi nonylfenolů (Riedel de Haen) používaných jako výchozí surovina k výrobě oxyethylenovaných nonylfenolů za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3.



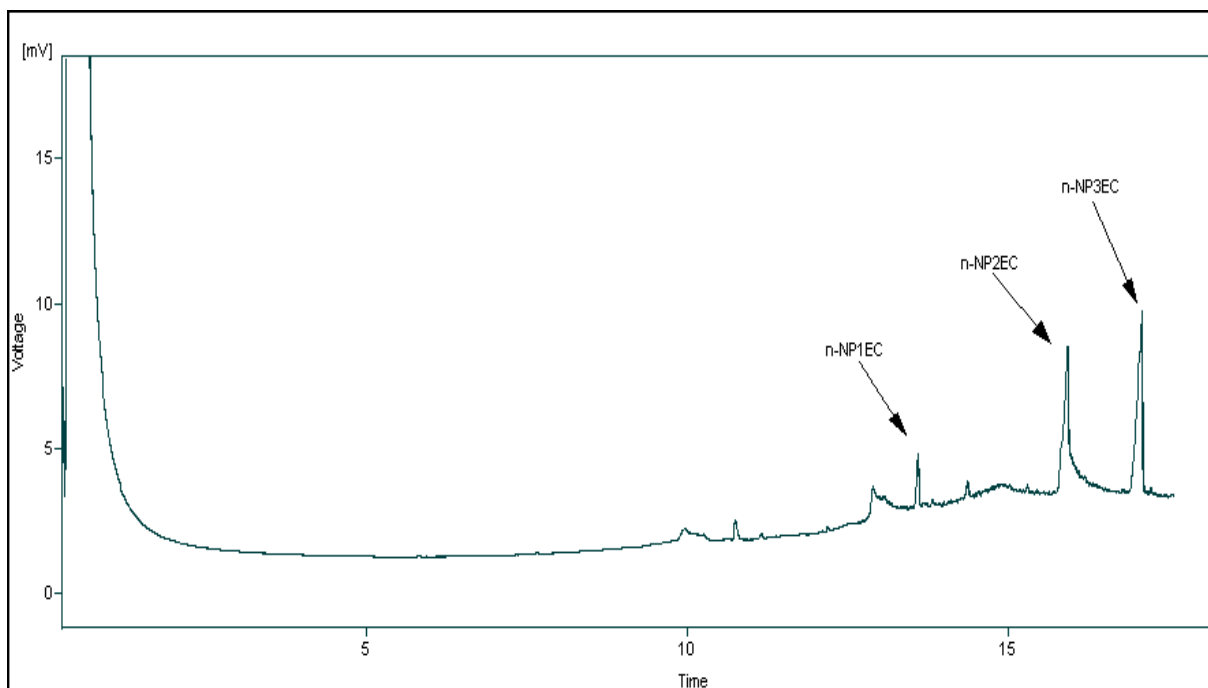
Obr.4. Chromatogram z analýzy technické směsi nonylfenolů (Sigma Aldrich) používaných jako výchozí surovina k výrobě oxyethylenovaných nonylfenolů za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3.



Obr.5. Chromatogram z analýzy produktů oxyethylenace technické směsi 4-nonylfenolů třemi moly ethylenoxidu za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3.



Obr.6. Chromatogram ze separace modelové směsi složené z 4-*n*-nonylfenolmono-, di- a trioxyethylenlátu za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3.



Obr.7. Chromatogram ze separace modelové směsi složené z 4-*n*-nonylfenoxyoctové, 4-*n*-nonylfenoxy(ethoxy)octové a 4-*n*-nonylfenoxy[ethoxy(ethoxy)]octové kyseliny za pracovních podmínek uvedených v kapitole 2.3.