

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Stanovení aromatických nitrosloúčenin pomocí GC-MS

Bc. Pavla Doležánová

Diplomová práce

2018

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

Determination of Nitroaromatic Compounds by GC-MS

Bc. Pavla Doležánová

Thesis

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Pavla Doležánová**
Osobní číslo: **C16538**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Analytická chemie**
Název tématu: **Stanovení aromatických nitrosloúčenin pomocí GC-MS**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte literární rešerši zaměřenou na stanovení aromatických nitrosloúčenin pomocí plynové chromatografie.
2. V experimentální části optimalizujte metodu pro jejich stanovení pomocí GC-MS. Zaměřte se na dosažení co nejvyšší citlivosti. Porovnejte možnost stanovení s využitím různých možností ionizace. Vypracovanou metodu ověřte na uměle kontaminovaných a případně i reálných vzorcích.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Aleš Eisner, Ph.D.

Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce:

doc. Ing. Petra Bajerová, Ph.D.

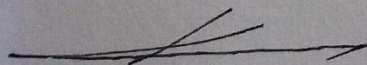
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce:

20. února 2018

Termín odevzdání diplomové práce:

11. května 2018



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

Prohlašuji:

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

Byla jsem seznámena 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.

V Pardubicích dne 11. 5. 2018

Bc. Pavla Doležánová

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat panu Ing. Aleši Eisnerovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a pomoc při vypracování diplomové práce. Dále bych touto cestou ráda poděkovala paní doc. Ing. Petře Bajerové, Ph.D. za její cenné rady a motivaci při dokončování diplomové práce.

ANOTACE

Diplomová práce se zaměřuje na hledání optimálních podmínek pro stanovení aromatických nitrosloučenin pomocí plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií. V teoretické části jsou shromážděny základní informace o plynové chromatografii a hmotnostní spektrometrii. Jsou zde zpracovány informace o různých možnostech stanovení aromatických nitrosloučenin pomocí GC. V experimentální části jsou optimalizovány podmínky pro měření kalibračních roztoků nitrosloučenin. Experimentální část zkoumá výběr vhodného extrakčního rozpouštědla pro úpravu a měření reálných vzorků. Dále zahrnuje identifikaci aromatických nitrosloučenin ve vzorcích improvizovaných výbušnin po jejich odpalu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Aromatické nitrosloučeniny

Plynová chromatografie

Hmotnostní spektrometrie

Výbušniny

ANOTATION

The diploma thesis contains searching for optimal conditions for determination of nitroaromatic compounds by gas chromatography associated with mass spectrometry. In the theoretical part, basic information about gas chromatography and mass spectrometry is collected. The work describes information about different possibilities of determination of aromatic nitro compounds by GC. The experimental part optimizes the conditions for the measurement of nitro compound calibration solutions. The experimental part examines the selection of a suitable extraction solvent for the preparation and measurement of real samples. The work involves the identification of nitroaromatic compounds in samples of improvised explosives.

KEYWORDS

Nitroaromatic compounds

Gas chromatography

Mass spectrometry

Explosives

OBSAH

| | |
|---|----|
| ÚVOD | 16 |
| 1 TEORETICKÁ ČÁST | 17 |
| 1.1 Aromatické nitrosloučeniny | 17 |
| 1.1.1 Vlastnosti..... | 17 |
| 1.1.2 Významní zástupci | 18 |
| 1.2 Charakterizace analytických metod | 20 |
| 1.2.1 Plynová chromatografie | 20 |
| 1.2.2 Hmotnostní spektrometrie | 21 |
| 1.2.3 Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií | 22 |
| 1.3 Stanovení aromatických nitrosloučenin | 24 |
| 1.3.1 Extrakce tuhou fází..... | 24 |
| 1.3.2 Mikroextrakce tuhou fází | 26 |
| 1.3.3 Mikroextrakce sorbentem v jehle mikrostříkačky..... | 30 |
| 1.3.4 Extrakce kapalina-kapalina | 31 |
| 1.3.5 Mikrovlnná extrakce | 35 |
| 1.3.6 Laserová desorpce | 36 |
| 1.3.7 Desorpce a chemická ionizace za atmosférického tlaku | 38 |
| 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 40 |
| 2.1 Přístrojové vybavení..... | 40 |
| 2.2 Použité chemikálie..... | 41 |

| | |
|---|----|
| 2.2.1 Standardy a roztoky chemikálií..... | 41 |
| 2.2.2 Vzorky..... | 41 |
| 2.3 Pracovní postup | 44 |
| 2.3.1 Příprava kalibračních roztoků | 44 |
| 2.3.2 Optimalizace podmínek pro měření kalibrační řady..... | 45 |
| 2.3.3 Optimalizace extrakce..... | 46 |
| 3 VÝSLEDKY A DISKUZE | 48 |
| 3.1 Výsledky měření kalibrační řady | 48 |
| 3.2 Výsledky optimalizace extrakce | 50 |
| 3.3 Výsledky měření reálných vzorků | 51 |
| 4 ZÁVĚR..... | 59 |
| SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 61 |
| PŘÍLOHY | 69 |

SEZNAM OBÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obrázek 1 Produkty získané z nitrobenzenu | 18 |
| Obrázek 2 Schéma plynového chromatografu | 20 |
| Obrázek 3 Schéma metody dSPE při použití eutektického rozpouštědla na bázi magnetického koloidního gelu z uhlíkových nanočástic..... | 26 |
| Obrázek 4 Chromatogram standardního roztoku aromatických nitrosloúčenin v přítomnosti (A) a nepřítomnosti (B) nanočástic mědi v povlaku z uhlíkového materiálu | 28 |
| Obrázek 5 Chromatogram reálného vzorku půdy | 29 |
| Obrázek 6 Srovnání grafenového vlákna s komerčními vlákny pro zjištění extrakční účinnosti nitrobenzenových sloučenin | 30 |
| Obrázek 7 Schéma průběhu klasické MEPS operace..... | 31 |
| Obrázek 8 Chromatogram vzorku extrahovaného metodou DUSA-DLLME-GC-MS. (1) nitrobenzen; (2) 2-nitrotoluen; (3) 2,6-dinitrotoluen; (4) 2,4,6-trinitrotoluen; (5) 2-amino-4,6-dinitrotoluen | 33 |
| Obrázek 9 Porovnání ploch píku extrakce za použití 1 µl toluenu, chloroformu, hexanu a diisopropyletheru | 34 |
| Obrázek 10 Schéma přenosu vzorku pomocí laserové desorpce..... | 36 |
| Obrázek 11 Porovnání metody přímého dávkování kalibračního roztoku do GC-MS (a) a laserové desorpce se zachycením na SPME vlákne (b)..... | 37 |
| Obrázek 12 Schéma experimentálního uspořádání ručního DAPCI přístroje..... | 38 |
| Obrázek 13 Plynový chromatograf GC-2010 (Shimadzu) spojený s hmotnostním spektrometrem GC-MSTQ 8030 (Shimadzu) a automatickým dávkovačem AOC-5000 (Shimadzu)..... | 40 |
| Obrázek 14 Aparatura k odpalu dinitronaftalenu | 43 |

| | |
|--|----|
| Obrázek 15 Ukázka odběru vzorku technikou suchého stěru z kovového plechu sklotextilním tampónem..... | 43 |
| Obrázek 16 Chromatografický záznam standardního roztoku aromatických nitrosloúčenin v režimu SCAN..... | 46 |
| Obrázek 17 Porovnání průměrných ploch píkú látek kalibračního roztoku o přibližné koncentraci 48 mg/l v závislosti na použité technice ionizace | 48 |
| Obrázek 18 Chromatogram vzorku 18/01/02, odpal NB + chlorečnan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 53 |
| Obrázek 19 Chromatogram vzorku 18/01/10, odpal NT + chlorečnan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 54 |
| Obrázek 20 Chromatogram vzorku 18/01/22, odpal DNN + chlorečnan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 54 |
| Obrázek 21 Chromatogram vzorku 18/02/10, odpal NT + chloristan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 55 |
| Obrázek 22 Chromatogram vzorku 18/02/22, odpal DNN + chloristan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 55 |
| Obrázek 23 Chromatogram vzorku 18/03/10, odpal NT + chloristan amonný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 56 |
| Obrázek 24 Chromatogram vzorku 18/03/14, odpal DNT + chloristan amonný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 56 |
| Obrázek 25 Chromatogram vzorku 18/03/22, odpal DNN + chloristan amonný, měřeno v SIM módu (NCI)..... | 57 |
| Obrázek 26 Kovový plech po odpalu nálože, kontaminace půdou | 58 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|--|----|
| Tabulka 1 Zjištěné koncentrace analyzovaných sloučenin ve vzorcích půdy | 29 |
| Tabulka 2 Porovnání plochy píků SPME a SDME metod | 34 |
| Tabulka 3 Rozpis pokusných odpalů použitých vzorků první série | 42 |
| Tabulka 4 Rozpis pokusných odpalů použitých vzorků druhé série | 42 |
| Tabulka 5 Rozpis pokusných odpalů použitých vzorků třetí série | 42 |
| Tabulka 6 Navážky standardů pro kalibrační řadu | 44 |
| Tabulka 7 Přepočítané koncentrace kalibračních roztoků podle skutečné navážky a pipetovaného objemu | 44 |
| Tabulka 8 Teplotní program plynové chromatografie | 45 |
| Tabulka 9 Podmínky měření kalibračních roztoků a vzorků | 45 |
| Tabulka 10 Parametry analyzovaných látek pro použití k měření v režimu SIM | 46 |
| Tabulka 11 Validace metody GC-MS | 49 |
| Tabulka 12 Parametry kalibrační křivky po validaci metody | 50 |
| Tabulka 13 Porovnání účinnosti testovaných rozpouštědel v závislosti na stanovované látce | 51 |
| Tabulka 14 Obsah nitrosloučenin ve vzorcích první série ve směsi s chlorečnanem draselným | 52 |
| Tabulka 15 Obsah nitrosloučenin ve vzorcích druhé série ve směsi s chloristanem draselným | 52 |
| Tabulka 16 Obsah nitrosloučenin ve vzorcích třetí série ve směsi s chloristanem amonným | 53 |

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|------------|---|
| 1,3,5-TNB | 1,3,5-trinitrobenzen |
| 1,3-DNB | 1,3-dinitrobenzen |
| 1,5-DNN | 1,5-dinitronaftalen |
| 1,8-DNN | 1,8-dinitronaftalen |
| 2,4,6-TNT | 2,4,6-trinitrotoluen |
| 2,4-DNT | 2,4-dinitrotoluen |
| 2,6-DNT | 2,6-dinitrotoluen |
| 2a-4,6-DNT | 2-amino-4,6-dinitrotoluen |
| 4a-2,6-DNT | 4-amino-2,6-dinitrotoluen |
| CI | chemická ionizace |
| DAPCI | desorpce a chemická ionizace za atmosférického tlaku |
| DLLME | disperzní mikroextrakce kapalina-kapalina |
| DNB | dinitrobenzen |
| DNN | dinitronaftalen |
| DNT | dinitrotoluen |
| dSPE | disperzní extrakce na pevné fázi |
| DUSA-DLLME | přímá ultrazvuková disperze s mikroextrakcí kapalina-kapalina |
| ECD | detektor elektronového záchytu |
| EI | elektronová ionizace |
| FID | plamenově ionizační detektor |
| GC | plynová chromatografie |
| GC-MS | spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií |
| HMX | octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocin |
| IR-MS | hmotnostní spektrometrie izotopových poměrů |

| | |
|-------|--|
| LLE | extrakce kapalina-kapalina |
| LOD | limit detekce |
| LOQ | limit kvantifikace |
| MAE | mikrovlnná extrakce |
| MEPS | mikroextrakce sorbentem v jehle mikrostríkačky |
| m-NT | meta nitrotoluen |
| MS | hmotnostní spektrometrie |
| MS/MS | tandemová hmotnostní spektrometrie |
| NB | nitrobenzen |
| NCI | negativní chemická ionizace |
| NT | nitrotoluen |
| o-NT | orto nitrotoluen |
| PDMS | polydimethylsiloxan |
| PEG | polyethylenglykol |
| p-NT | para nitrotoluen |
| RDX | 1,3,5-triazin |
| RSD | relativní směrodatná odchylka |
| SDME | mikroextrakce jednou kapkou |
| SPE | extrakce tuhou fází |
| SPME | mikroextrakce tuhou fází |
| TNT | trinitrotoluen |

ÚVOD

Aromatické nitrosloučeniny jsou látky nepříznivě působící na lidské zdraví. V některých případech mohou působit toxicky, karcinogenně či mutagenně. Používají se zejména jako složky výbušnin a jejich produkty rozkladu mohou přetrvávat v půdě nebo podzemních vodách. Stanovení aromatických nitrosloučenin je velmi podstatné pro posuzování jejich vlivu na životní prostředí, proto je důležité hledání rychlých, účinných a spolehlivých analytických metod pro jejich identifikaci.

K získání aromatických nitrosloučenin z kapalných a pevných vzorků lze použít různé druhy extrakčních technik. V této práci je pro stanovení aromatických nitrosloučenin optimalizována metoda plynové chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií. V rámci řešení úkolu Identifikace reziduí improvizovaných výbušnin fyzikálně-chemickými analytickými metodami za reálných podmínek po výbuchu, proběhly odpaly připravených vzorků výbušnin v uhelném dole obce Bílina. Získané reálné vzorky byly měřeny pomocí GC-MS.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Aromatické nitrosloučeniny

1.1.1 Vlastnosti

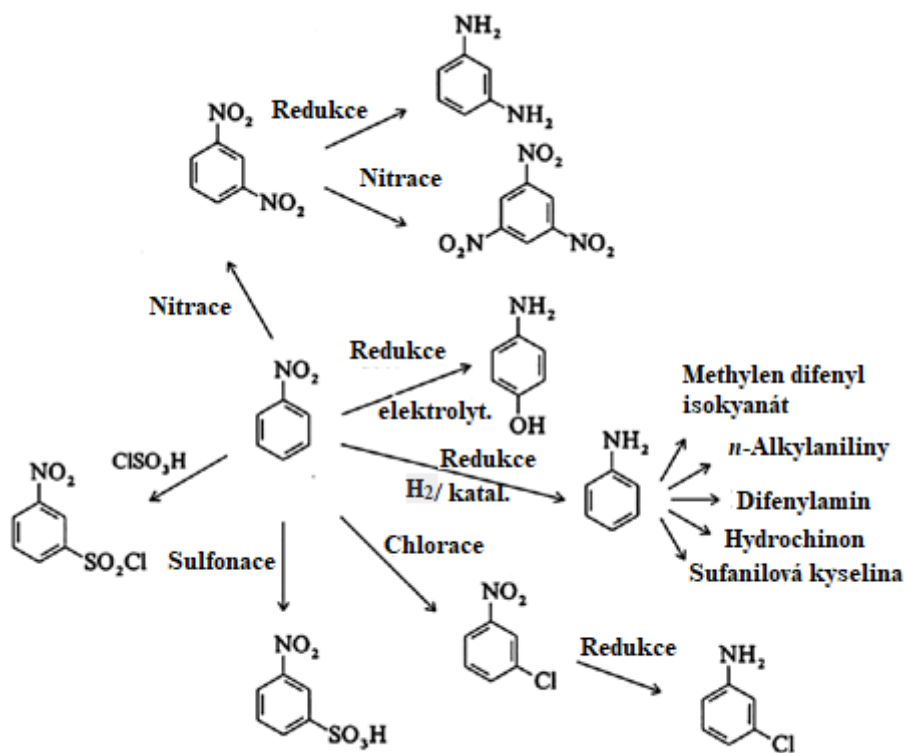
Aromatické nitrosloučeniny řadíme mezi největší a nejdůležitější skupiny používaných průmyslových chemikálií. Jedná se o organické molekuly obsahující jednu nebo více nitroskupin ($-\text{NO}_2$), která je napojena na aromatický kruh. Většina z nich se vyrábí synteticky. Nitrosloučeniny obvykle vznikají reakcí nazývanou nitrace. Jedná se o připojení nitroskupiny na organický zbytek. Nitrace aromatických nitrosloučenin se nejčastěji provádí za použití reakční směsi kyseliny dusičné a sírové. Nejdůležitější reakcí u aromatických nitrosloučenin je jejich redukce, která může být vyvolána různými druhy činidel. Při kyselých podmínkách redukce je produktem téměř vždy amin. V alkalickém roztoku se vytvářejí sloučeniny obsahující vazby dusík – dusík jako jsou azo, hydrazo nebo azoxy sloučeniny. V neutrálním prostředí může redukce poskytnout hydroxylamin [1; 2].

Aromatické nitrosloučeniny již po více než desetiletí přitahují pozornost ve vztahu k životnímu prostředí, do kterého byly zavedeny především lidskou činností. Jedná se o průmyslově vyráběné chemikálie, které mohou být použity jako rozpouštědla pro syntézu barviv, polymerů nebo plastů. Tato třída látek je také široce používána při syntéze pesticidů, insekticidů, léků a výbušin. Jedná se i o vedlejší produkty při spalování paliv ve vozidlech a elektrárnách. Studie prokázaly, že vysoké koncentrace aromatických nitrosloučenin mohou způsobit toxické poškození jater, ledvin nebo sleziny. Jejich rozsáhlé používání vede i ke znečištění půdy a podzemních vod [1; 3].

Studium vlivu aromatických nitrosloučenin na životní prostředí a živé organismy je nezbytné hlavně z toho důvodu, že mnoho z nich má mutagenní a karcinogenní účinky, spolu s méně škodlivými, ale stejně důležitými zdravotními komplikacemi, jakou jsou alergické reakce, poškození endokrinního systému nebo podráždění pokožky. Stejně, nebo i více, toxické mohou být jejich produkty a deriváty. Aromatické nitrosloučeniny jsou v životním prostředí obzvláště obtížně kontrolovatelné, jelikož jsou velmi odolné vůči chemické nebo biologické oxidaci a hydrolýze [4].

1.1.2 Významní zástupci

Nitrobenzen (NB) je hořlavá, světle žlutá kapalina s vůní hořkých mandlí a s molární hmotností 123,06 g/mol. Jedná se o látku snadno rozpustnou ve většině organických rozpouštědel, ale málo rozpustnou ve vodě. Používá se jako rozpouštědlo při specifických chemických reakcích. Reakce nitrobenzenu zahrnují buď elektrofilní meta-substituci aromatického kruhu nitrací, halogenací nebo sulfonací. Většina vyrobeného nitrobenzenu se převede na anilin, který má stovky následných produktů. Pro získání čistých reakčních produktů jsou zapotřebí velmi specifické redukční podmínky a meziprodukty jsou obvykle prakticky neizolovatelné. Jedná se o velmi toxickou látku, a jelikož se snadno absorbuje skrz kůži nebo dýchací cesty, může způsobit akutní otravu. Chronická expozice může způsobit i poškození sleziny a jater [5; 6].



Obrázek 1 Produkty získané z nitrobenzenu [5]

Dinitrobenzeny (DNB) jsou skupina tří izomerů s molekulovou hmotností 168,11 g/mol. Komerčně je dostupná jejich směs i jednotlivé izomery. Všechny tři izomery jsou nerozpustné ve vodě. Orto-, meta- i para- izomery jsou bezbarvé až nažloutlé krystalické látky. Dinitrobenzen se snadno vstřebává kůží nebo vdechováním. Jedná se o látku toxickou. U člověka je hlavním následkem intoxikace DNB více či méně závažná cyanóza [7].

Dalším významným zástupcem aromatických nitrosloúčenin je trinitrotoluen (TNT). Biodegradací a fotolýzou TNT vznikají vysoce reaktivní sloučeniny s větší polaritou a rozpustností ve vodě, což může představovat ještě větší environmentální zájem než samotný TNT. 2-amino-4,6-dinitrotoluen, 4-amino-2,6-dinitrotoluen, 2,4-dinitrotoluen a 2,6-dinitrotoluen patří mezi hlavní, ale méně toxické metabolity TNT, které jsou eliminovány v moči po konjugaci s glukokortikoidy. Mezi další produkty patří nitrobenzen, 1,3-dinitrobenzen, 1,3,5-trinitrobenzen, 2-nitrotoluen, 3-nitrotoluen a 4-nitrotoluen, které vznikají buď během průmyslové výroby TNT nebo jako produkty jeho rozkladu. Pracovníci v zařízeních pro výrobu výbušnin jsou pravidelně vystavováni těmto nebezpečným nitroorganickým sloučeninám, proto je žádoucí přesná identifikace a kvantifikace TNT a jeho degradačních produktů v biologických vzorcích [8].

Mononitrotolueny jsou látky s molekulovou hmotností 137,1 g/mol. 2-nitrotoluen i 3-nitrotoluen jsou světle žluté kapaliny s charakteristickou vůní po hořkých mandlích. 4-nitrotoluen tvoří nažloutlé krystaly. Všechny tři izomery jsou téměř nerozpustné ve vodě. Typickým použitím nitrotoluenů je výroba pigmentů, chemikálií nebo výbušnin [9].

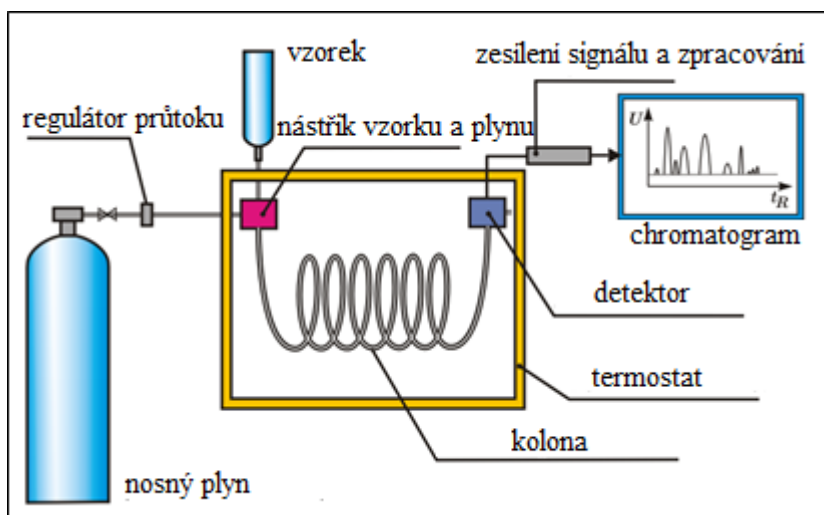
2,4-dinitrotoluen (2,4-DNT) je za pokojové teploty žlutá, tuhá látka nerozpustná ve vodě s molekulovou hmotností 182,135 g/mol. 2,4-DNT se používá převážně při výrobě barviv a výbušnin, nebo jako meziprodukt při výrobě polyuretanů. Zkoušky na zvířatech prokázaly jeho středně vysokou až vysokou akutní toxicitu [10].

1.2 Charakterizace analytických metod

1.2.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je separační metoda, která se používá ke stanovení plynů, kapalin i tuhých látek. Je založena na rozdělování složek mezi mobilní a stacionární fázi. Mobilní fáze je pohyblivá a v plynové chromatografii je to tzv. nosný plyn. Stacionární fáze je nepohyblivá a je zakotvena v chromatografické koloně. Touto fází může být pevná látka (silikagel, Al_2O_3 , aktivní uhlí, polymerní sorbenty atd.) nebo vysokovroucí kapalina nanesená na inertním nosiči. V dnešní době se nejčastěji používají kolony kapilární, kde je stacionární fáze nanesená na vnitřní stěnu speciálně upravené křemenné kapiláry.

Princip plynové chromatografie je obecně známý. Vzorek se vstříkne do vyhřívané nástřikové komory, kde dojde k jeho odpaření a následně je ve formě par unášen do kolony pomocí nosného plynu. V koloně se jednotlivé složky vzorku separují na základě schopnosti poutat se na stacionární fázi, což je závislé na distribuční konstantě každé složky. Separované látky vycházejí z kolony jedna za druhou dle rostoucích distribučních konstant a následně vstupují do detektoru, který zaznamená okamžitou koncentraci látky v nosném plynu. Výsledný grafický záznam se nazývá chromatogram a představuje závislost odezvy detektoru na čase.



Obrázek 2 Schéma plynového chromatografu [11]

Chování látky v daném systému charakterizují její retenční (eluční) parametry a jejich shoda se standardy je základem pro kvalitativní analýzu látek v plynové chromatografii. Kvantitativní množství látky vystupující z kolony se měří různými detektory, které indikují její

okamžitou koncentraci. Celkové množství stanovované látky je pak úměrné ploše zaznamenaného píku [12].

1.2.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická metoda založená na měření hmotnosti molekul nebo jejich fragmentů. Principem metody je interakce nabitých částic s magnetickým nebo elektrickým polem. Využívá se převedení molekul na ionty a rozlišení iontů podle jejich poměru hmotnosti a náboje (m/z). Vzniklé nabitě částice se po separaci zaznamenávají a výsledkem je hmotnostní spektrum – závislost četnosti iontů na hodnotách m/z . Hmotnostní spektrometrie se řadí mezi metody s vysokou citlivostí a používá se pro kvalitativní i kvantitativní analýzu. V současnosti se používá velká řada technických provedení MS, avšak všechny spektrometry se skládají ze tří základních částí – iontový zdroj, analyzátor a detektor [13].

Iontový zdroj

V iontovém zdroji dochází k ionizaci vzorku a vzniku iontů v plynné fázi, u kterých může po jejich vzniku dojít k rozpadu – fragmentaci a vznikají tak kladné nebo záporné ionty molekulární, aduktové nebo i fragmenty ionizované molekuly u některých méně stabilních látek. Obecně se iontové zdroje dělí do dvou skupin na základě množství energie působící při ionizaci na molekulu na tzv. „měkké“ a „tvrdé“ ionizační techniky. Nejstarší a nejčastěji využívanou tvrdou ionizační technikou je elektronová ionizace (EI), kde dochází k předání energie molekulám analytu od letících elektronů. Tato technika ionizace je často používaná pro spojení hmotnostní spektrometrie s plynovou chromatografií. Výhodou je možnost porovnání získaných spekter s knihovnou, která je nepostradatelnou součástí vyhodnocení. Mezi „měkké“ ionizační techniky patří chemická ionizace (CI). Elektrony nejprve ionizují reakční plyn (např. methan) a teprve poté dojde k ionizaci molekul analytu. Při této technice ionizace nedochází k tak rozsáhlé fragmentaci jako u EI, jelikož je v tomto případě molekulám analytu předáváno méně energie. Volba iontového zdroje závisí především na typu analyzovatelné látky a požadavcích na konkrétní analýzu [14; 15].

Hmotnostní analyzátor

Analyzátor je umístěn za zdrojem iontů a využívá se k rozdělení iontů za vysokého vakua podle jejich tzv. efektivní hmotnosti – poměru m/z . Existuje několik druhů hmotnostních analyzátorů, které pracují na různých fyzikálních principech. Každý analyzátor má jinou rozlišovací schopnost, hmotnostní a dynamický rozsah, rychlost záznamu spekter a míru správnosti určení hodnoty m/z . Mezi nejznámější a nejvíce využívané hmotnostní analyzátory patří například kvadrupólový analyzátor, iontová past, průletový analyzátor, orbitrap a další [15].

Detektor

Po rozdělení iontů v plynném stavu za pomoci hmotnostního analyzátoru jsou tyto ionty zaznamenány detektorem. Následně dojde k převedení signálu do digitální formy. Detektory obecně rozdělujeme do dvou skupin. První skupinou jsou detektory zaznamenávající všechny ionty bez ohledu na jejich efektivní hmotnost a fungují na principu přímého měření elektrického proudu. Ten vznikne po srážce iontu s dynodou. Elektrický proud je poté za pomoci násobičů zesilován. Do druhé skupiny patří detektory schopné zaznamenávat ionty s ohledem na jejich velikost m/z , kam řadíme orbitrap a iontově cyklotronovou rezonanci. Signál je v tomto případě zpracován tzv. Fourietovou transformací [14].

1.2.3 Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií

Plynová chromatografie dokáže s velmi vysokou rozlišovací schopností odseparovat těkavé sloučeniny, ale nemůže je identifikovat. Hmotnostní spektrometrie poskytuje podrobné strukturální informace o většině sloučenin tak, že mohou být přesně identifikovány, ale nedokáže je snadno oddělit. Proto nebylo překvapující navržení kombinace těchto dvou technik krátce po vývoji GC.

Plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie jsou v mnoha ohledech vysoce kompatibilními technikami. U obou metod je vzorek v plynné fázi a obě techniky pracují s přibližně stejným množstvím vzorku. Bohužel se mezi těmito technikami nachází zásadní neslučitelnost, a to rozdíl tlaků mezi hmotnostním analyzátozem a analyzovanými látkami vstupujícími do iontového zdroje o 8 až 9 řádů. Tento problém byl však vyřešen několika způsoby pomocí tzv. „interface“ zařízení a spojení GC s MS je v dnešní době zcela rutinní záležitostí.

Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií je jedním z nejdůležitějších nástrojů pro identifikaci a kvantifikaci těkavých organických sloučenin v komplexních směsích. Je velmi užitečné pro stanovení molekulových hmotnostní a někdy i elementárních kompozic neznámých organických sloučenin ve vzorku. Mezi další aplikace GC-MS patří kvantifikace znečišťujících látek v pitné a odpadní vodě, používá se také ke kvantifikaci léků a jejich metabolitů v krvi a moči. Dále jsou významné i farmakologické a forenzní aplikace. Identifikace reakčních produktů syntetických organických chemikálií je další rutinní aplikací, stejně jako analýza průmyslových výrobků pro kontrolu jejich kvality [16].

Mezi nejčastěji používané MS analyzátory patří kvadrupól, iontová past a analyzátor doby letu. Jedná se o analyzátory s rychlou odezvou a relativně nízkými pořizovacími náklady [15].

1.3 Stanovení aromatických nitrosloúčenin

Příprava vzorku a charakterizace aromatických nitrosloúčenin v reálných vzorcích je velmi důležitá pro posuzování jejich vlivů na životní prostředí. Zvolená metoda výrazně ovlivňuje spolehlivost a přesnost získaných výsledků. Mezi nejnovější trendy při úpravě vzorku patří miniaturizace, automatizace, zvyšování výkonu, on-line spojení s analytickými přístroji a nízkonákladový provoz s malou spotřebou rozpouštědel. Aromatické nitrosloúčeniny se používají zejména jako složky výbušnin a je potřeba získání rychlého, účinného a spolehlivého způsobu detekce zbytků těchto látek. Výbušniny a jejich produkty rozkladu navíc mohou přetrvávat v půdě nebo podzemních vodách a představují tak hrozbu pro životní prostředí a zdraví lidí. Nejpoužívanější metodou pro stanovení aromatických nitrosloúčenin je plynová chromatografie, velmi často ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Úpravu vzorku je vhodné provádět s využitím různých druhů extrakčních metod [17].

1.3.1 Extrakce tuhou fází

Extrakce tuhou fází (SPE) je běžně používanou technikou přípravy vzorků s komplexní maticí a umožňuje extrakci, čištění a zakoncentrování stanovovaných látek před jejich kvantifikací. SPE využívá zachycení molekul analytu na pevnou fází (sorbent) v důsledku mezimolekulárních interakcí. Typická extrakce na tuhé fází zahrnuje čtyři kroky: kondicionace extrakční kolony, dávkování vzorku, promytí rozpouštědlem a eluce zachycené látky [18].

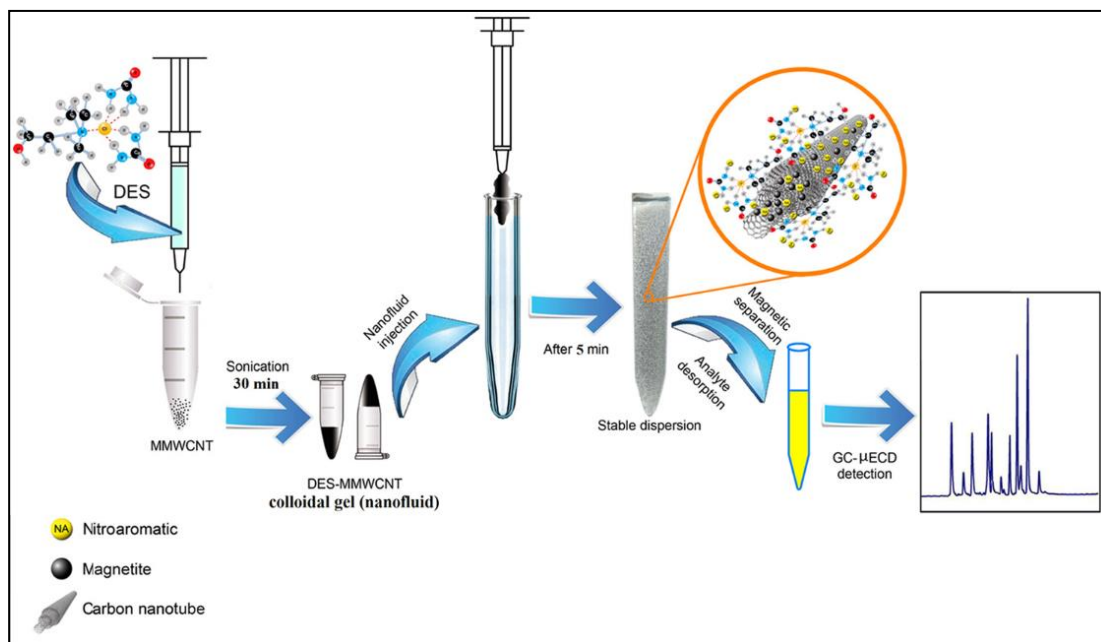
Identifikace stopového množství aromatických nitrosloúčenin může být velmi obtížná, zejména ve složitých vzorcích s komplexní maticí jako je půda. V literatuře existuje několik publikovaných metod popisujících stanovení organických výbušnin v různých maticích. Tyto metody jsou však obvykle zdlouhavé, komplikované nebo jsou validovány pouze pro vybrané výbušniny na jednoduchých maticích. Je zapotřebí odstranění nežádoucích kontaminantů a složek matrice před samotnou instrumentální analýzou pomocí postupu čištění vzorku. Extrakce pevnou fází může být alternativní metodou aplikovanou na půdní vzorky. U SPE se nežádoucí materiál ve vzorku promyje různými rozpouštědly nebo se zadrží na sorbentu a analyty, které jsou předmětem stanovení, jsou eluovány za použití malého objemu rozpouštědla. Bylo prokázáno, že SPE poskytuje vysoké výtěžky pro analýzu organických výbušnin v půdě [19].

V roce 2018 popsal J. L. Thomas [19] vylepšenou čistící metodu pro stanovení stopového množství dvanácti nitroorganických výbušnin v půdě včetně aromatických nitrosloučenin, konkrétně 4-nitrotoluenu a 2,4-dinitrotoluenu. Cílem výzkumu bylo zlepšit detekci analytu vyvinutím alternativního postupu zpracování vzorku. Odebrané vzorky půdy byly extrahovány acetonem, zpracovány pomocí extrakce na pevné fázi (SPE) a poté analyzovány pomocí plynové chromatografie s detektorem elektronového záchytu. Tato studie porovnávala účinnost tří kopolymerních SPE kazet: Empore™ SDB-XC, Oasis® HLB a Bond Elut NEXUS. Kazeta Oasis® HLB měla původně nejvyšší hodnoty výtěžnosti, ale také velmi dlouhé časy zpracování, kvůli nízkým průtokům a častému ucpávání, což se jeví jako velmi nepraktické. U kazety Empore™ SDB-XC byla doba zpracování také dlouhá, pohybovala se mezi 1 a 2h, navíc i cena této kazety je značně vysoká. Nejlepší výtěžnost a nejrychlejší dobu zpracování vzorku poskytla kazeta od firmy NEXUS. Optimalizovaná metoda SPE byla úspěšně aplikována na vzorky půd obsahující zbytky výbušnin. Výsledky ukazují potenciální užitečnost a praktičnost metody obnovy stopových množství výbušnin ve složitějších maticích jako je půda [19].

Mezi moderní techniky pro úpravu vzorku před analýzou patří také disperzní extrakce tuhou fází (dSPE), kdy se přímo ke vzorku přidá sorbent, který se běžně používá k plnění SPE kolonek. Disperzní extrakce tuhou fází je založena na dispergaci pevného sorbentu v kapalném vzorku a současně zahrnuje výhody extrakce kapalina-kapalina (LLE) a SPE [20]. Velkou nevýhodou této metody jsou obtížné a časově náročné postupy sběru a post-extracce dispergovaného sorbentu, což může značně ovlivnit opakovatelnost metody. Izolaci sorbentu z roztoku vzorku v posledních letech usnadnilo použití magnetických nanočástic při dSPE postupech. Obvykle však účinná disperze magnetických nanočástic vyžaduje externí prostředky jako například ultrazvukové lázně [21].

R. Zarei [21] popisuje ve své práci aplikaci hluboce eutektického rozpouštědla na bázi magnetického koloidního gelu z uhlíkových nanočástic pro disperzní SPE extrakci ultra-stopových množství některých aromatických nitrosloučenin ve vzorcích vody. Eutektické rozpouštědlo v koloidním gelu je kompatibilní s plynovou chromatografií a slouží částečně jako nosič a stabilizátor pro magnetické nanotrubičky. V této studii byly kombinovány vícevrstvé uhlíkové nanotrubičky s močovinou/cholinchloridovým eutektickým rozpouštědlem za vzniku vysoce stabilního rozpouštědla na bázi magnetického koloidního gelu. Připravený koloidní gel byl použit pro rychlou, účinnou, jednoduchou a ekologicky bezpečnou verzi dSPE. Získané výsledky ukázaly, že navrhovaná metoda má vyšší účinnost extrakce než běžné dSPE metody.

Testovaná metoda byla použita pro úspěšné stanovení aromatických nitrosloučenin ve vzorcích odpadních vod [21].



Obrázek 3 Schéma metody dSPE při použití eutektického rozpouštědla na bázi magnetického koloidního gelu z uhlíkových nanočástic [21]

1.3.2 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je jednoduchá technika zakoncentrování analytu, při které dochází ke spojení extrakce a vzorkování. Zařízení pro SPME je velmi jednoduché, vypadá jako modifikovaná injekční stříkačka. Hlavní součástí je křemenné, 1-2 cm dlouhé zasouvatelné vlákno, potažené tenkou vrstvou polymeru (např. polydimethylsiloxanu), který slouží jako stacionární fáze. Vlákno je chráněno pomocí kovové jehly, ve které se nachází. Principem metody SPME je sorpce vzorku na polymer pokrývající křemenné vlákno. K nanesení analytu dochází pomocí jehly, z které je vysunuto vlákno do zkoumaného vzorku. Po odběru vzorku se vlákno zasune zpět do jehly. Dalším krokem je přenos analytu z vlákna do chromatografu. Vlákno je pomocí jehly vloženo do nástřikového prostoru, kde v případě plynové chromatografie probíhá tepelná desorpce složky v horkém dávkovacím prostoru [22].

Typ použitého povlaku vlákna pro SPME analýzu hraje zásadní roli v procesu extrakce a desorpce. Účinnost tohoto procesu závisí na distribuční konstantě mezi analyty a stacionární fází. Je k dispozici široká škála komerčních materiálů pro výrobu SPME vláken jako nepolární polydimethylsiloxan (PDMS), karboxen / PDMS, semipolární PDMS / divinylbenzen a polární

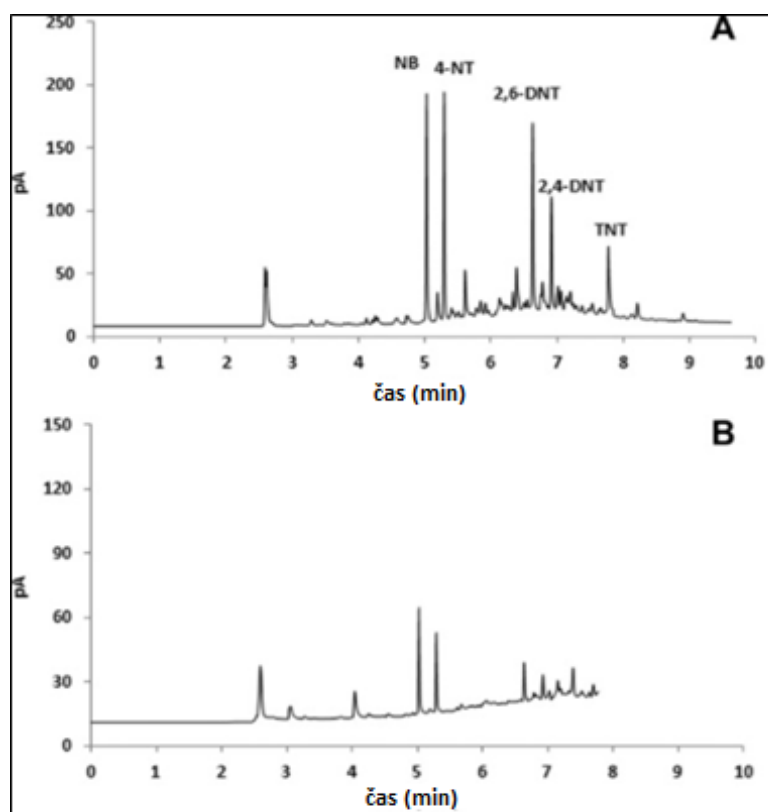
polyakrylát, carbowax / divinylbenzen nebo polyethylenglyol (PEG). Přestože se tyto vlákna úspěšně používají v mnoha oborech, některé z nich mají stále nevýhody, jako jsou například vysoké náklady, odolnost vůči vysokým teplotám a organickým rozpouštědlům, nízká účinnost extrakce (zejména u polárních a iontových sloučenin) nebo nižší selektivita [23]. Pro odstranění těchto nevýhod byly vyvíjeny nové způsoby přípravy SPME vláken, včetně použití nepotažených vláken [24], sol-gelové technologie [25], elektrochemické modifikace [26], nebo za použití materiálů jako jsou například polymerní iontové kapaliny [27].

S. L. Jonsson [28] popsal v roce 2007 techniku zaměřenou na optimalizaci metody pro analýzu aromatických nitrosloúčenin v komplexních vzorcích na bázi vody za použití GC-MS. SPME a plynová chromatografie byly testovány v kombinaci s detektorem elektronového záchytu (ECD), plamenovým ionizačním detektorem (FID) a hmotnostní spektrometrií (MS). Další technikou použitou pro následující sloučeniny byla kombinace SPME a IR-MS. Pro kvantifikaci byla vyvinuta metoda ředění izotopů pomocí vnitřních standardů označených ^{13}C . Inertní standardy značené izotopem se doporučují pro kvantifikaci vzorků s komplexními maticemi pomocí SPME. Izotopické ředění se značně používá k zjištění stopového množství organických polutantů v životním prostředí. Bylo studováno použití elektronové ionizace (EI) a negativní chemické ionizace (NCI), aby se zjistila nejlepší citlivost a selektivita pro stanovované látky. Pro ionizaci byla NCI nejcitlivější a nejselektivnější metodou. SPME byla porovnána s extrakcí tuhou fází (SPE). Metoda SPME byla používána pro vzorky obsahující zbytky výbušnin a léčiv. Ve srovnání s SPE byla metoda SPME pro analyzované vzorky výrazně citlivější. Limity detekce (LOD) byly v rozmezí 0,02–38 ng/l pro SPME a 6–184 ng/l pro SPE [28].

K. Farhadi a kol. [23] provedl v roce 2014 studii zaměřenou na stanovení aromatických nitrosloúčenin (nitrobenzenu, 4-nitrotoluenu, 2,4-dinitrotoluenu, 2,6-dinitrotoluenu a trinitrotoluenu) ve vzorcích půdy za použití speciálně upraveného SPME vlákna. Cílem této práce bylo vyvinout a připravit SPME vlákno na bázi uhlíkových keramických nanočástic s mědí pro následnou analýzu pomocí plynové chromatografie s plamenovou detekcí. Sorbenty byly připraveny smícháním nanočástic mědi s keramickým kompozitem vyrobeným ze směsi methyltrimethoxysilanu, grafitu, methanolu a kyseliny chlorovodíkové. Připravené nanokompozity byly statisticky vyhodnoceny a poskytly lepší detekční limity než čistý keramický kompozit. Limit detekce navrhované metody byl 0,6 $\mu\text{g/g}$ s lineární odezvou v rozmezí koncentrací 2-160 $\mu\text{g/g}$. Bylo prokázáno, že nově navržené vlákno je vhodným, levným, odolným a citlivým kandidátem pro extrakci aromatických nitrosloúčenin

v kontaminovaných vzorcích půdy a může být použito více než stokrát bez nutnosti obnovování povrchu.

Na obrázku 4 můžeme vidět chromatogramy nitroaromatických standardů za přítomnosti (A) a nepřítomnosti (B) nanočástic mědi. Je patrné významné zvýšení plochy píků za použití vláken obsahujících měděné nanočástice. Chromatografické podmínky byly následující: kolona DB-35 30 m x 0,32 mm, tloušťka filmu 0,25 μm , nosný plyn dusík, teplotní program: počáteční teplota 100 $^{\circ}\text{C}$ udržovaná po dobu 1 minutu, zvýšená při rychlosti ohřevu 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ na 250 $^{\circ}\text{C}$ a udržována po dobu 20 minut, teplota nástřikového prostoru 200 $^{\circ}\text{C}$, detekční systém FID.

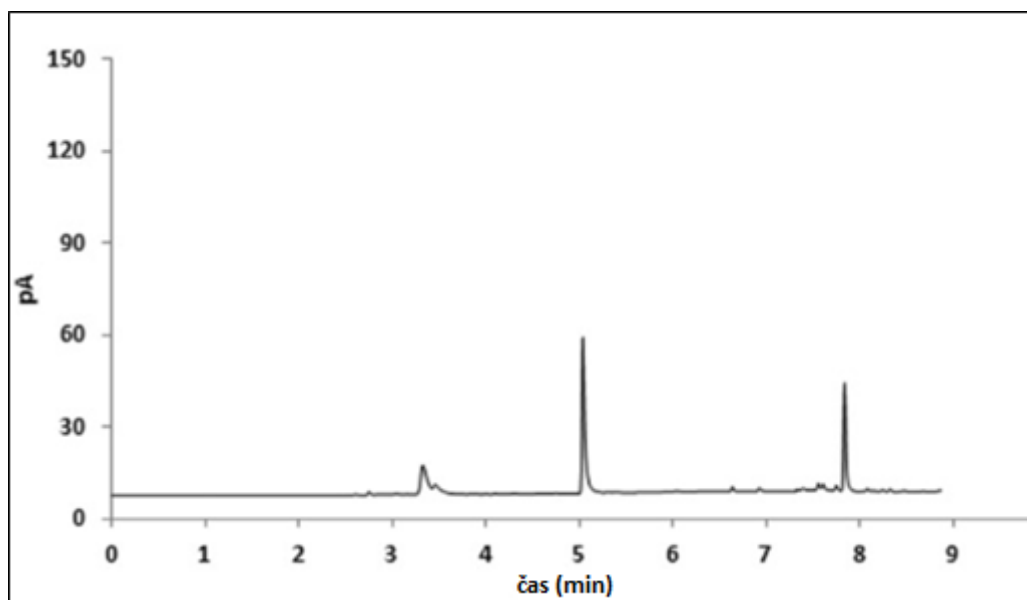


Obrázek 4 Chromatogram standardního roztoku aromatických nitroslooučenin v přítomnosti (A) a nepřítomnosti (B) nanočástic mědi v povlaku z uhlíkového materiálu [23]

Konečná optimalizovaná metoda byla použita pro stanovení nitroslooučenin v reálném vzorku půdy získaných z dolů hematitu v Íránu. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1. Byly detekovány pouze dva ze studovaných analytů – NB a TNT. Obrázek 5 zobrazuje chromatogram analyzovaného reálného vzorku půdy [23].

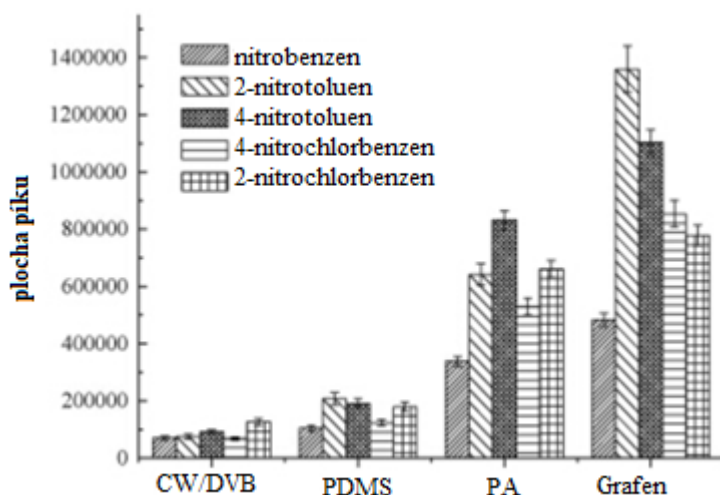
Tabulka 1 Zjištěné koncentrace analyzovaných sloučenin ve vzorcích půdy [23]

| | NB | 4-NT | 2,6-DNT | 2,4-DNT | TNT |
|---|----------------|------|---------|---------|----------------|
| Koncentrace ($\mu\text{g/g}$) | $11,7 \pm 1,2$ | - | - | - | $34,8 \pm 2,9$ |



Obrázek 5 Chromatogram reálného vzorku půdy [23]

V práci G-J. Zhang a kol. [29] byla vyvinuta a validována metoda postupu čištění vzorku za použití mikroextrakce tuhou fází spojené s GC-MS pro stanovení stopové hladiny nitrosločenin ve vzorcích půdy a vody. Byly stanovovány následující látky: nitrobenzen, 2-nitrotoluen, 4-nitrotoluen, 4-nitrochlorbenzen a 2-nitrochlorbenzen. Pro extrakci byl použit nerezový drátek potažený grafenem. Srovnání komerčně dostupných vláken s vláknem s grafenovým povrchem ukazuje obrázek 6. Z obrázku je patrná mnohem větší účinnost extrakce pomocí grafenového vlákna, pravděpodobně v důsledku porézní a vrásčité struktury povlaku a většího počtu adsorpčních míst. Grafen může navíc interagovat s nitrobenzenovými sloučeninami mnohem silněji než ostatní, jelikož má velký delokalizovaný systém π -elektronů, který může vytvářet silnou vazbu s aromatickými kruhy stanovovaných sloučenin. Testované vlákno vykazovalo dobrou tepelnou stabilitu, vysokou účinnost extrakce a dlouhou životnost.

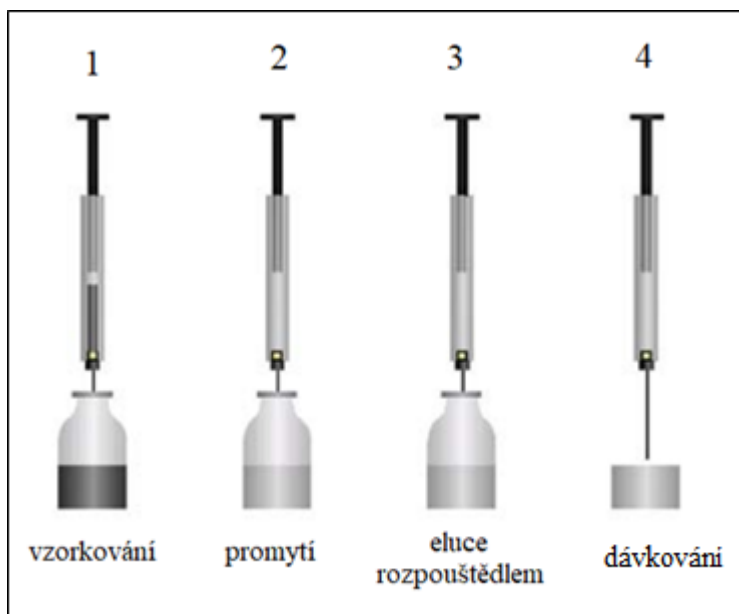


Obrázek 6 Srovnání grafenového vlákna s komerčními vlákny pro zjištění extrakční účinnosti nitrobenzenových sloučenin [29]

Za optimalizovaných podmínek byla linearita metody v rozmezí 0,2 až 15 $\mu\text{g/l}$ u vzorků vody a 0,2 až 60 $\mu\text{g/l}$ u vzorků půdy. Limity detekce metody byly 0,0025–0,005 $\mu\text{g/l}$ pro vzorky vody a 0,02–0,04 $\mu\text{g/l}$ pro vzorky půdy. Výťažnost vzorků se pohybovala v rozmezí 72,0–113,2 % a přesnost vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka byla nižší než 12,1 %, což vykazuje dostatečnou správnost i přesnost optimalizované metody [29] .

1.3.3 Mikroextrakce sorbentem v jehle mikrostríkačky

Při pokusech zamezení problémů při úpravě vzorku se zdá být dobrou alternativou metoda MEPS (mikroextrakce sorbentem v jehle mikrostríkačky) Jedná se v podstatě o miniaturizaci konvenční SPE techniky. MEPS aparatura je složena ze dvou částí. První částí je MEPS stríkačka, druhou částí je barel s jehlou obsahující stacionární fázi. Proces MEPS techniky se skládá ze 4 kroků (obrázek 7). Nejprve dojde k nasátí vzorku, poté k čištění pomocí promývacího roztoku, aby došlo k odstranění interferencí. Třetím krokem je eluce analytu pomocí vhodného rozpouštědla a posledním krokem je dávkování analytu přímo do dávkovacího prostoru. Metoda MEPS je vícenásobná extrakční technika, která výrazně urychluje dobu zpracování vzorku a snižuje spotřebu organických rozpouštědel. Je to metoda rychlá, snadno použitelná, automatizovatelná a vhodná pro malé objemy roztoků. Lze ji propojit on-line s plynovou chromatografií bez nutnosti jakékoliv další modifikace analytického přístroje [30; 31; 32].



Obrázek 7 Schéma průběhu klasické MEPS operace [32]

V roce 2017 byla zkoumána nová, jednoduchá, rychlá, efektivní a spolehlivá analytická metoda kvantifikace dvanácti aromatických nitrosloúčenin pomocí spojení MEPS s GC-MS. Mikroextrakční zařízení využívalo jako sorbent 4 mg C18 oxidu křemičitého. Bylo optimalizováno několik parametrů, které jsou schopny ovlivnit samotný postup mikroextrakce, jako je například počet extrakčních cyklů, druh a objem elučního a promývacího rozpouštědla a pH matrice. Vyvinutá metoda poskytla vynikající výsledky s uspokojivými hodnotami výtěžnosti extrakce. MEPS poskytuje cestu k vylepšení přípravy vzorků, napomáhá citlivosti a selektivitě. MEPS výrazně snížila dobu přípravy vzorku a spotřebu organických rozpouštědel. Úprava vzorku pomocí MEPS zmenšila matricový efekt, což následně zvýšilo použitelnost dané metody [33].

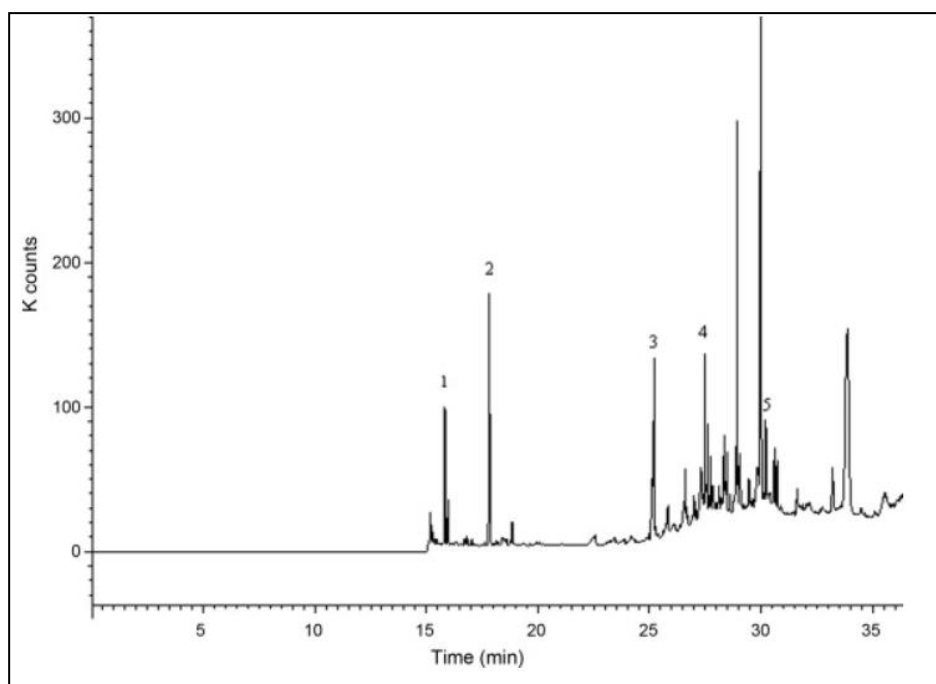
1.3.4 Extrakce kapalina-kapalina

Při extrakci kapalina-kapalina (LLE) se převádí analyt z vodného roztoku vzorku do organického rozpouštědla. Rozpuštěná látka přechází z jedné kapalné fáze do druhé. Aby byla tato extrakce účinnou separační metodou, musí být použito vhodné extrakční činidlo, které se nemísí s původním roztokem tak, že dojde k vytvoření dvou zřetelně ohraničených vrstev. Poměr koncentrací rozpuštěné látky je po ustavení rovnováhy v obou fázích konstantní. Pro popis přechodu látek při extrakci v systému voda-organická fáze slouží tzv. distribuční konstanta K_D , která se vyjadřuje, jako poměr koncentrace rozpuštěné látky v organické a vodné fázi [34; 35].

C. Cortada a kol. [36] popsal ve svém článku v roce 2011 metodu pro stanovení aromatických nitrosloúčenin ve vzorcích vody pomocí přímé ultrazvukem asistované disperze a mikroextrakce kapalina-kapalina (DUSA-DLLME) s následnou analýzou pomocí GC-MS. Metoda DLLME je založena na tvorbě malých kapiček extrakčního činidla v roztoku vzorku s použitím organického rozpouštědla nemísitelného s vodou. Technika poskytuje mnoho výhod jako je jednoduchost, rychlost, malý objem vzorku, nízká cena, široké využití a vysoký obohacovací faktor [36].

Sonochemie patří mezi rostoucí téma ve vědě a technice. Účinky ultrazvuku na chemické a fyzikální přeměny součástí fenoménu kavitace. Kavítace je výroba mikrobublin v tekutině za aplikace velkého negativního tlaku [37]. Sonochemie byla kombinována s disperzní mikroextrakcí kapalina-kapalina a výsledkem je nová DUSA-DLLME technika.

Hlavním cílem práce C. Cortada a kol. [36] bylo vyvinout novou, rychlou, levnou, citlivou a účinnou metodu DUSA-DLLME pro extrakci aromatických nitrosloúčenin z vodných vzorků. Titanová válcová ultrazvuková sonda byla přímo zavedena do vzorku pro zvýšení účinnosti přenosu energie. Byly optimalizovány parametry extrakce a postup byl následně použit při stanovení pěti aromatických nitrosloúčenin (nitrobenzen, 2-nitrotoluen, 2,6-dinitrotoluen, 2,4,6-trinitrotoluen a 2-amino-4,6-dinitrotoluen) v reálných vzorcích odpadních vod. Jako extrakční rozpouštědlo byl použit chlorbenzen. Všechny analýzy byly provedeny v systému GC-MS s kolonou o parametrech 30 m x 0,25 mm, 1 μ m. Použitým hmotnostním analyzátozem byla iontová past. Jako nosný plyn bylo použito hélium s průtokem 1 ml/min. Na obrázku 8 je znázorněn chromatogram vzorku extrahovaného metodou DUSA-DLLME-GC-MS [36].

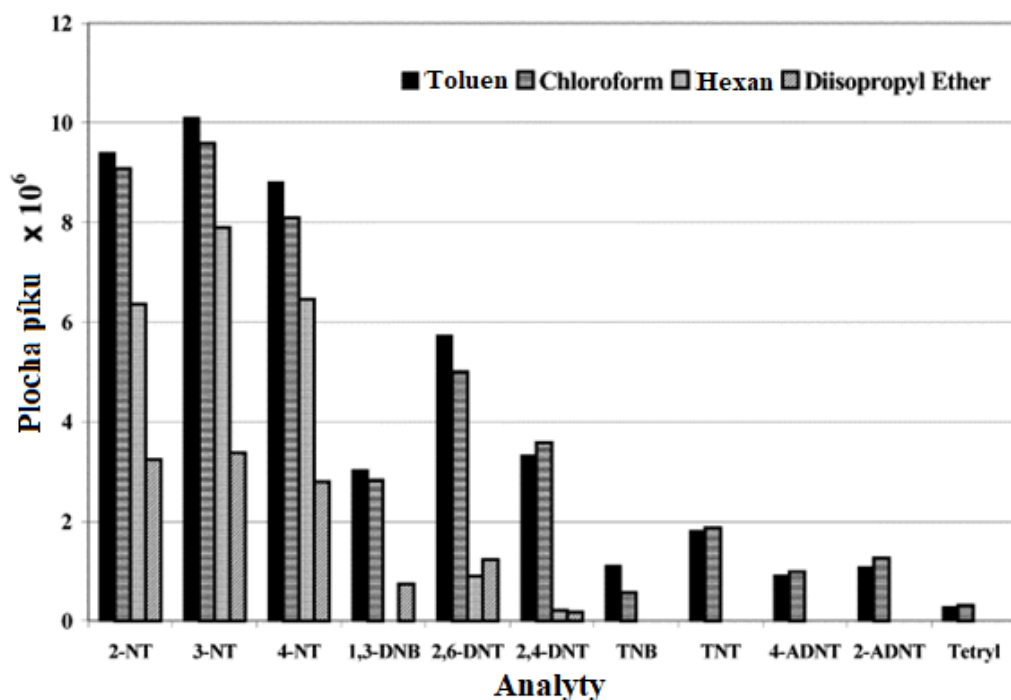


Obrázek 8 Chromatogram vzorku extrahovaného metodou DUSA-DLLME-GC-MS. (1) nitrobenzen; (2) 2-nitrotoluen; (3) 2,6-dinitrotoluen; (4) 2,4,6-trinitrotoluen; (5) 2-amino-4,6-dinitrotoluen [36]

Klasické metody LLE jsou považovány za nákladné, časově a manuálně náročné a vyžadují použití velkého množství vysoce čistých rozpouštědel, které jsou často nebezpečné a vedou ke vzniku toxického laboratorního odpadu. LLE před vlastní analýzou navíc vyžaduje odpařování rozpouštědla. Během tohoto kroku byla zaznamenána částečná ztráta stanovovaných analytů [38].

Nedávný trend v metodách přípravy vzorků zahrnuje miniaturizaci tradiční metody extrakce kapalina-kapalina a nazývá se mikroextrakce jednou kapkou (SDME). Mikrokapka s vodou nemísitelným rozpouštědlem visí na hrotu konvenční mikrostříkačky a je ponořena do vodného roztoku. Organické látky jsou extrahovány z vodné do organické fáze a po určité době se mikrokapka zatáhne zpět do jehly a přenesení do injekčního portu plynového chromatografu pro další analýzu [39].

Cílem studie E. Psillakise a kol. [39] bylo poskytnout experimentální porovnání mezi SPME a SDME na základě výsledků získaných pro analýzu výbušnin ve vzorcích vody. Pro SDME metodu byly testovány čtyři rozpouštědla lišící se polaritou a rozpustností ve vodě. Výsledky jsou uvedeny na obrázku 9. Celkově poskytl nejlepší výsledky toluen kombinací dobré selektivity a nízké ztráty rozpouštědla při extrakci. Bylo zjištěno, že toluenová kapka je snadno manipulovatelná s nejnižším výskytem ztráty i při použití větší rychlosti míchání [39; 40].



Obrázek 9 Porovnání ploch píku extrakce za použití 1 μ l toluenu, chloroformu, hexanu a diisopropyletheru [39]

Mikroextrakce tuhou fází byla provedena za použití SPME vlákna z polydimethylsiloxan-divinylbenzenu s tloušťkou filmu 65 μ m. Analýzy byly provedeny v GC-MS systému s kapilární kolonou a elektronovou ionizací s použitím helia jako nosného plynu. Tabulka 2 porovnává plochy píků získané SPME a SDME metodou a jasně ukazuje vyšší odezvu přístroje za použití SPME jako extrakční techniky.

Tabulka 2 Porovnání plochy píků SPME a SDME metod [39]

| Analyt | Plocha píku (x 10 ⁵) | |
|---------|----------------------------------|-------|
| | SPME | SDME |
| 2-NT | 374,3 | 109,3 |
| 3-NT | 397,8 | 112,7 |
| 4-NT | 381,5 | 103,8 |
| 1,3-DNB | 122,7 | 53,49 |
| 2,6-DNT | 237,3 | 75,96 |
| 2,4-DNT | 201,9 | 58,22 |
| TNB | 20,23 | 18,91 |
| TNT | 96,77 | 37,12 |
| 4-ADNT | 80,48 | 17,27 |
| 2-ADNT | 74,97 | 22,46 |
| Tetryl | 9,262 | 5,977 |

Přesnost obou metod byla prověřena provedením pěti po sobě jdoucích extrakcí za stejných provozních podmínek. Reprodukovatelnost metody vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka (RSD) byla u SPME metody v rozmezí od 2,0 do 8,9 % s průměrnou hodnotou 3,5%. U SDME byly hodnoty RSD horší, v rozmezí 4,3–9,8 %. Hodnota korelačního koeficientu byla u SPME v rozmezí 0,9857–0,9979 a u SDME 0,9498–0,9857. Je zřejmé, že při SPME bylo ve všech případech dosaženo lepší přesnosti a linearity, pravděpodobně z toho důvodu, že SDME technika vyžaduje ruční operace, které vedou k méně reprodukovatelným výsledkům [39].

1.3.5 Mikrovlnná extrakce

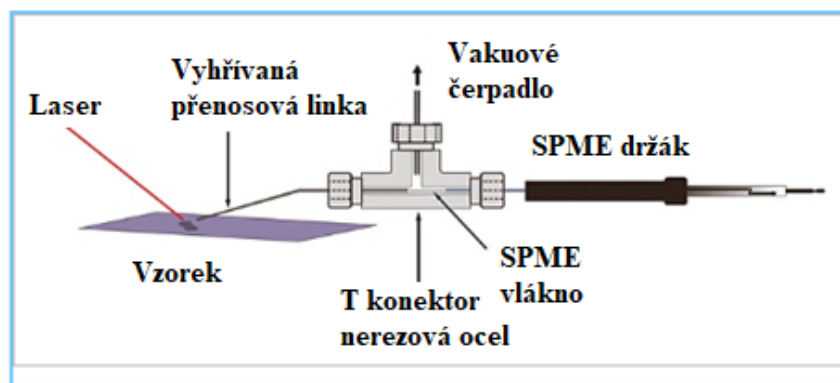
Mikrovlnná extrakce (MAE) je proces, který využívá mikrovlnné energie k ohřevu směsi rozpouštědla a vzorku s účelem oddělení analytu z matrice vzorku do rozpouštědla. Typický extrakční postup trvá 15-30 minut za použití malého objemu rozpouštědla v rozmezí 10-30 ml. Hlavní výhodou použití MAE je snížení doby extrakce, snížení spotřeby organických rozpouštědel a možnost úprav více vzorků najedou.

Princip zahřívání pomocí mikrovlnné energie je založen na přímém působení mikrovln na molekuly a vede k elektroforetické migraci iontů v magnetickém poli a rotaci dipólu, což má za následek zahřívání roztoku. MAE může probíhat za vysokého tlaku ve speciálních uzavřených extrakčních nádobách. V tomto případě se používají rozpouštědla s velkou hodnotou dielektrické konstanty, která silně pohlcují mikrovlnné záření. Při použití otevřených nádob za atmosférického tlaku se používá rozpouštědlo, které absorbuje méně mikrovlnné energie a má nízkou hodnotou dielektrické konstanty [41].

A. Kjellstrom a kol. [42] ve své studii z roku 2008 aplikoval optimalizovanou metodu mikrovlnné extrakce spojenou s plynovou chromatografií na stanovení 2,4,6-trinitrotoluenu a příbuzných sloučenin v půdě. Metoda společně s termoionizačním detektorem umožňuje detekci cílových sloučenin v rozsahu pg/g až µg/g. Mikrovlnná extrakce, jako technika přípravy vzorků půdy, byla označena jako vhodná alternativa k tradičním metodám extrakce v enviromentální analýze [42].

1.3.6 Laserová desorpce

V roce 2016 popsal Ch. A. Seneviratne a kol. [43] ve své práci metodu pro analýzu nitroaromatických výbušnin zahrnující separaci malých molekul na bázi laserové desorpce s následným zachycením na SPME vlákne ve spojení s GC-MS.

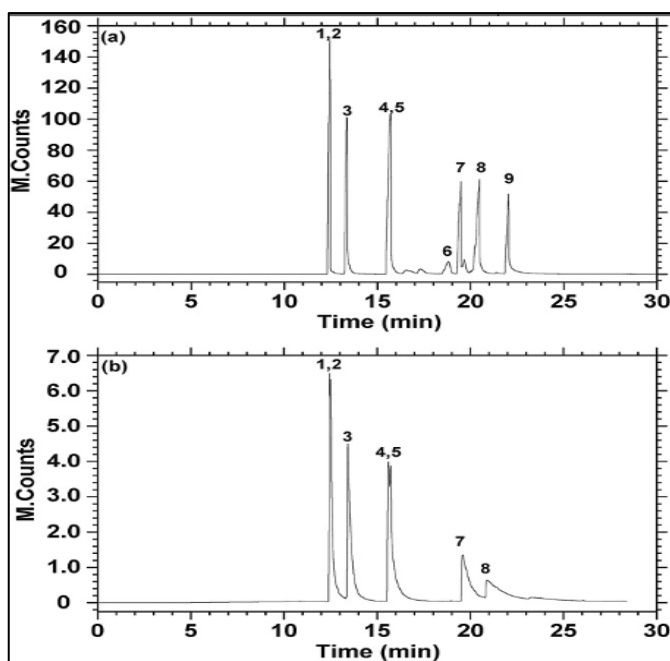


Obrázek 10 Schéma přenosu vzorku pomocí laserové desorpce [43]

Schéma systému přenosu vzorku pomocí laserové desorpce a SPME je znázorněno na obrázku 10. Vzorky byly aplikovány na kovový terč připojený k počítači a desorbovány infračerveným laserem z oblasti střední vlnové délky v úhlu odrazu s pulzním optickým infračerveným oscilátorem. Vlnová délka laseru byla nastavena na 2,94 μm a byla použita pulzní energie 1,2 mJ. Ve všech experimentech byl laser zaměřen na bod o velikosti 250 μm s ohniskovou vzdáleností 10 cm. Desorbovaný materiál byl odebrán do trubky z nerezavějící oceli. Byl zajištěn podtlak (10^{-3} Torr) pomocí dvoustupňového suchého rolovacího čerpadla. Pro omezení kondenzace desorbovaného materiálu byla přenosová linka za použití topné pásky udržována na 85 $^{\circ}\text{C}$. T konektor připojený k vakuovému čerpadlu zajišťoval regulaci průtoku a sání. Vlákno SPME bylo opatrně vloženo do teflonové trubice a bylo vystaveno průtoku. Ve všech pokusech bylo použito vlákno SPME (60 μm , CW/DVB, 24 Ga, 57316-U, Supelco, Bellefonte, PA, USA) a manuální držák vláken (Supelco). Vlákno bylo nejprve kondicionováno v nástřikovém prostoru GC po dobu 30 minut při 280 $^{\circ}\text{C}$ a poté 5 minut při 260 $^{\circ}\text{C}$ před každou vlastní extrakcí. Po odběru vzorku bylo vlákno SPME vyjmuta z T konektoru a vloženo do nástřikového prostoru GC. Analýzy sloučenin byly provedeny na přístroji GC-MS Saturn 2200. Těkavé sloučeniny byly odděleny kapilární kolonou (DB-5, 30 m x 0,32 mm, tloušťka filmu 0,5 μm , Agilent, Santa Clara, CA, USA). Jako nosný plyn bylo použito helium o průtoku 1 ml/min. Byla použita elektronová ionizace při 70 eV. Kalibrační směs aromatických nitrosloučenin obsahovala 2-amino-4,6-dinitrotoluen(2a-4,6-DNT), 4-amino-2,6-dinitrotoluen (4a-2,6-DNT), 1,3-dinitrobenzen (1,3-DNB), 2,4-dinitrotoluen (2,4-DNT), 2,6-dinitrotoluen

(2,6-DNT), octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocin (HMX), 1,3,5-trinitrobenzen (1,3,5-TNB), 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), 2,4,6-trinitrophenylmethylnitratamin (tetryl) a 1,3,5-trinitroperhydro-1,3,5-triazin (RDX) v acetonitrilu.

Metodou přímého dávkování roztoku do GC byly detekovány všechny sloučeniny ve směsi kromě HMX. Metodou zachycení na SPME vlákne byly identifikovány všechny sloučeniny kromě HMX, RDX a tetryl. U těkavých složek 1,3-DNB, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 1,3,5-TNB, TNT a 2a-4,6-DNT usnadňuje tlaková laserová desorpce odebrání materiálu pro zachycení na SPME vlákno. Málo těkavý RDX a tetryl nebyly detekovány, což mohlo být způsobeno méně účinnou desorpcí, zachycením nebo laserem vyvolanou disociací. Obrázek 11 ukazuje srovnání metody přímého vstřikování 1 μ l kalibračního roztoku do GC-MS (a) a laserové desorpce se zachycením na SPME vlákne (b). Číslování píků je následující: 1. 1,3-DNB, 2. 2,6-DNT, 3. 2,4-DNT, 4. 1,3,5-TNB, 5. TNT, 6. RDX, 7. 4-a-2,6-DNT, 8. 2-a-4,6-DNT a 9. tetryl. Laserová desorpce s následným zachycením na SPME vlákne zajišťuje rychlé provedení během několika minut a nevyžaduje použití rozpouštědla ani další úpravu vzorku [43].

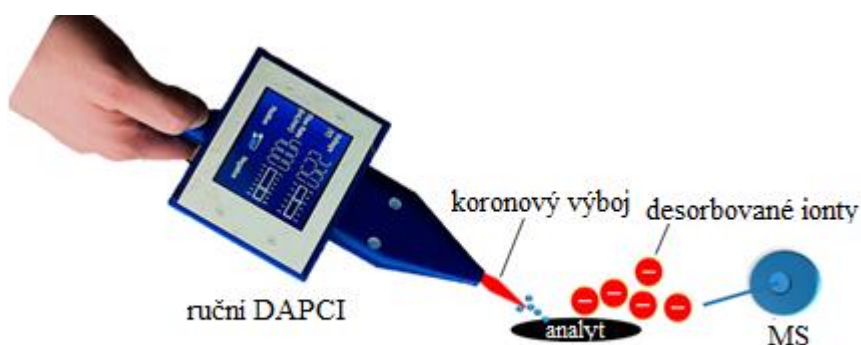


Obrázek 11 Porovnání metody přímého dávkování kalibračního roztoku do GC-MS (a) a laserové desorpce se zachycením na SPME vlákne (b) [43]

1.3.7 Desorpce a chemická ionizace za atmosférického tlaku

Při klasickém DAPCI experimentu se generuje koronový výboj aplikací vysokého stejnosměrného napětí pomocí výbojové jehly a produkované ionty činidla v plynné fázi jsou pneumaticky dopravovány k povrchu za použití nosného plynu (např. dusík, helium, argon). Analyty se desorbují a ionizují přímo z povrchu, pravděpodobně pomocí dvoustupňového mechanismu zahrnující tepelnou desorpci následovanou ionizací v plynné fázi, přenos protonů nebo elektronů a jejich následné zachycení [45].

F. Jjunj a kol. [44] vyvinul v roce 2015 nový, lehký, nízkonákladový ruční bezrozpuštěllový iontový zdroj založený na desorpci a chemické ionizaci za atmosférického tlaku (DAPCI) pro analýzu nitroaromatických výbušnin, který nabízí použitelnost v terénu. Studie popisuje vývoj prvního ručního zdroje iontů DAPCI a jeho aplikaci na přímou analýzu aromatických nitroslooučenin z povrchů volného prostranství. Kompletní přístroj včetně zdroje iontů, vzduchového čerpadla, akumulátoru a elektrických obvodů je uzavřen v 3D vytištěném plastovém krytu. Malá, levná, dobíjecí lithiová polymerní baterie byla použita k napájení obvodů, které generují až 5kV stejnosměrné napětí pro zapálení plazmy s koronovým výbojem ve vzduchu. Baterie umožňuje až dvanáctihodinový nepřetržitý provoz a hmotnostní spektrometrii pozitivních i negativních iontů. Zdroj plazmatu umožňuje analýzu kapalných nebo pevných vzorků téměř okamžitě bez jejich úpravy. Ruční iontový zdroj je optimálně spojen s hmotnostním spektrometrem umístěným ve vzdálenosti přibližně 2,5 mm. Vzniklé ionty analytu se přenesou do hmotnostního spektrometru pomocí tzv. interface zařízení, které pracuje za atmosférického tlaku [44].



Obrázek 12 Schéma experimentálního uspořádání ručního DAPCI přístroje [44]

Prostřednictvím tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS) bylo prokázáno, že ruční DAPCI zdroj je účinnou metodou selektivní analýzy aromatických nitroslooučenin, které

byly snadno ionizovány a detekovány pomocí ručního iontového zdroje spojeného s hmotnostním spektrometrem. Jednotlivé analyty lze snadno detekovat v množstvích až 5,8 pg s lineárním dynamickým rozsahem 10 až 100 pg a relativní směrodatnou odchylkou cca 7 % a hodnotou odchylky R^2 0,9986. Byla prokázána přímá detekce několika aromatických nitrosloučenin v komplexní směsi bez předchozí úpravy vzorků a jejich přítomnost byla potvrzena využitím MS/MS [44].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Přístrojové vybavení

Pro stanovení a analýzu aromatických nitrosloučenin byl použit plynový chromatograf GC-2010 spojený s hmotnostním spektrometrem GCMS-TQ 8030 od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko). Přístroj je vybaven GC-MS převodníkem, chemickou a elektronovou ionizací. Dále je přístroj vybaven trojitým kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem a elektronovým násobičem. Helium 5.0 od firmy Linde (Praha) bylo použito jako nosný plyn. Aromatické nitrosloučeniny byly rozděleny na kapilární koloně RTX® TNT s parametry 15 m x 0,18 mm x 0,20 μm (Restec, USA). Dávkování roztoků probíhalo pomocí automatického dávkovače vzorku AOC-5000 od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko). Přístroj je vidět na obrázku 13.



Obrázek 13 Plynový chromatograf GC-2010 (Shimadzu) spojený s hmotnostním spektrometrem GC-MSTQ 8030 (Shimadzu) a automatickým dávkovačem AOC-5000 (Shimadzu)

Na vážení všech roztoků, chemikálií a standardů byly použity analytické váhy HR-120-EC vyrobené firmou A&D instruments LTD (Japonsko). Váží s přesností na desetiny mg. Dále byla použita třepačka Vortex TTS2 basic od firmy IKA - WERKE GMBH & CO. KG (Německo) a odstředivka Spectrafuge™ 16M od firmy Labnet International, Inc (Edison, USA).

2.2 Použité chemikálie

2.2.1 Standardy a roztoky chemikálií

Pro přípravu kalibrační řady a k optimalizaci podmínek metody byly použity tyto chemikálie a rozpouštědla:

- nitrobenzen (NB), Explosia a.s. (Pardubice)
- dinitrobenzen (DNB), Explosia a.s. (Pardubice)
- o-nitrotoluen (o-NT), Explosia a.s. (Pardubice)
- m-nitrotoluen (m-NT), Explosia a.s. (Pardubice)
- p-nitrotoluen (p-NT), Explosia a.s. (Pardubice)
- 2,4-dinitrotoluen (2,4-DNT), Explosia a.s. (Pardubice)
- 2,6-dinitrotoluen (2,6-DNT), Explosia a.s. (Pardubice)
- dinitronaftalen (DNN), Explosia a.s. (Pardubice)
- aceton, čistota 100 %, VWR BDH Chemicals
- methanol, čistota 99,9 %, Sigma-Aldrich, (Steinheim, Německo)
- acetonitril, čistota 99,9 %, Sigma-Aldrich, (Steinheim, Německo)
- dichlormethan čistota 99,9 %, Sigma-Aldrich, (Steinheim, Německo)

2.2.2 Vzorky

Vzorky výbušných směsí byly vždy připraveny do polyethylenových dóz navážením testované aromatické nitrosloučeniny (NB, DNB, NT, DNT, DNN) a chlorečnanu draselného dle příslušného stechiometrického poměru. Stejně bylo postupováno i v případě chloristanu draselného a chloristanu amonného (viz tabulky 3, 4 a 5). Celková hmotnost nálože byla vždy 50 g.

Pod takto připravené nálože, které byly zavěšeny 40–60 cm vysoko, byla vždy před každým odpalem umístěna polyetylenová fólie, na kterou byl umístěn nerez-plechový terč o rozměru přibližně 33 x 33 cm. Po odpálení náloží pyrotechnikem byl odebrán vzorek po výbuchu formou stěru sklotextilním tampónem, který byl poté uzavřen do čisté skleněné nádoby. Byla stírána celá exponovaná plocha terče za použití techniky suchého stěru. Kovové terče byly ihned po odběru vzorku uloženy do ochranných obalů, označeny číslem odpalu a uloženy do kontejneru. Stejným číslem byla označena i nádoba se vzorkem. Přesné označení

vzorků použitých pro diplomovou práci je uvedeno v tabulkách 3, 4 a 5. Ve všech případech bylo pracováno v ochranných rukavicích, které byly měněny před každým novým odpalem. Fotky aparatury experimentu a odběr vzorku jsou na obrázku 14 a 15. Odpaly byly prováděny v uhelném dolu v katastru obce Bílina. Vzhledem k předpokládané povaze výbušných komponent a s ohledem na možnou nestabilitu povýbuchových reziduí bylo vzorkování prováděno přímo v terénu na improvizovaném odběrovém stanovišti.

Tabulka 3 Rozpis pokusných odpalů použitých vzorků první série

| | | Stechiometrický poměr látek | | |
|------------|-----------------|-----------------------------|------------|-----------------|
| Látka | Hmotnost nálože | Chlorečnan draselný | Nitrolátka | Označení vzorku |
| NB | 50 g | 80,5 | 19,5 | 18/01/02 |
| DNB | 50 g | 71 | 29 | 18/01/06 |
| NT | 50 g | 82 | 18 | 18/01/10 |
| DNT | 50 g | 74,5 | 25,5 | 18/01/14 |
| DNN | 50 g | 78 | 22 | 18/01/22 |

Tabulka 4 Rozpis pokusných odpalů použitých vzorků druhé série

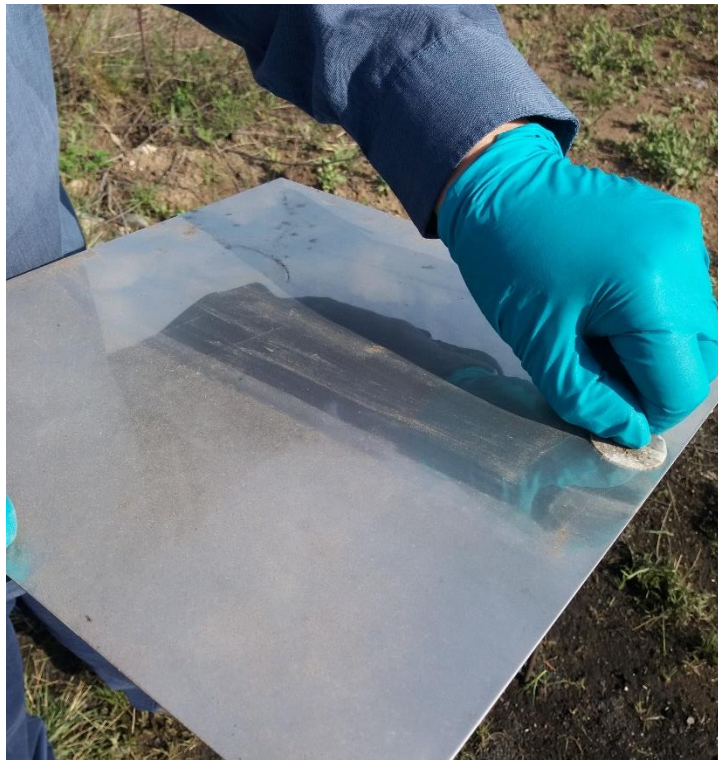
| | | Stechiometrický poměr látek | | |
|------------|-----------------|-----------------------------|------------|-----------------|
| Látka | Hmotnost nálože | Chloristan draselný | Nitrolátka | Označení vzorku |
| NB | 50 g | 78 | 22 | 18/02/02 |
| DNB | 50 g | 67 | 33 | 18/02/06 |
| NT | 50 g | 79,5 | 20,5 | 18/02/10 |
| DNT | 50 g | 71 | 29 | 18/02/14 |
| DNN | 50 g | 75 | 25 | 18/02/22 |

Tabulka 5 Rozpis pokusných odpalů použitých vzorků třetí série

| | | Stechiometrický poměr látek | | |
|------------|-----------------|-----------------------------|------------|-----------------|
| Látka | Hmotnost nálože | Chloristan amonný | Nitrolátka | Označení vzorku |
| NB | 50 g | 84,5 | 15,5 | 18/03/02 |
| DNB | 50 g | 76 | 24 | 18/03/06 |
| NT | 50 g | 86 | 14 | 18/03/10 |
| DNT | 50 g | 76,5 | 20,5 | 18/03/14 |
| DNN | 50 g | 82,5 | 17,5 | 18/03/22 |



Obrázek 14 Aparatura k odpalu dinitronaftalenu



Obrázek 15 Ukázka odběru vzorku technikou suchého stěru z kovového plechu sklotextilním tampónem

2.3 Pracovní postup

2.3.1 Příprava kalibračních roztoků

Do 5 ml odměrné baňky byl připraven zásobní roztok všech standardů o koncentraci přibližně 4 g/l navážením pevných (DNB, 2,4-DNT, 2,6-DNT, p-NT, DNN) a kapalných (NB, o-NT, m-NT) standardů. Navážené látky byly rozpuštěny v acetonu a baňka byla doplněna po rysku. Odpipetováním příslušného objemu ze zásobního roztoku byla připravena pětibodová kalibrační řada o koncentracích přibližně 4,8; 12; 24; 48 a 100 mg/l do 5 ml odměrných baněk. Přesné navážky standardů a přepočítané koncentrace kalibračních roztoků jsou uvedeny v tabulkách 6 a 7.

Tabulka 6 Navážky standardů pro kalibrační řadu

| Standard | Navážka (mg) |
|-----------------|---------------------|
| NB | 24,0 |
| o-NT | 20,1 |
| m-NT | 19,1 |
| p-NT | 20,1 |
| DNB | 19,3 |
| 2,6-DNT | 19,6 |
| 2,4-DNT | 19,6 |
| DNN | 19,0 |

Tabulka 7 Přepočítané koncentrace kalibračních roztoků podle skutečné navážky a pipetovaného objemu

| Přepočítané koncentrace kalibračních roztoků (mg/l) | | | | | |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Látka | Roztok 1 | Roztok 2 | Roztok 3 | Roztok 4 | Roztok 5 |
| NB | 5,8 | 14,4 | 28,79 | 57,59 | 120 |
| o-NT | 4,824 | 12,06 | 24,12 | 48,24 | 100,5 |
| m-NT | 4,584 | 11,46 | 22,92 | 45,84 | 95,5 |
| p-NT | 4,824 | 12,06 | 24,12 | 48,24 | 100,5 |
| DNB | 4,6 | 11,52 | 23,04 | 46,08 | 96 |
| 2,6-DNT | 4,632 | 11,58 | 23,16 | 46,32 | 96,5 |
| 2,4-DNT | 4,704 | 11,704 | 23,52 | 47,04 | 98 |
| DNN | 4,56 | 11,4 | 22,8 | 45,6 | 95 |

2.3.2 Optimalizace podmínek pro měření kalibrační řady

Byly hledány optimální podmínky pro separaci a měření kalibračních roztoků. Postupně byly zkoušeny a měněny různé parametry přístroje jako například teplota nástřiku, průběh teplotního programu, dělicí poměr a možnosti ionizace. Získané optimální podmínky měření, které vykazovaly dobrý a přijatelný výsledek byly následně použity pro měření kalibračních roztoků i vzorků a jsou shrnuty v tabulce 8 a 9. Celková doba jedné analýzy byla 15 minut.

Tabulka 8 Teplotní program plynové chromatografie

| Teplotní nárůst (°C) | Konečná teplota (°C) | Čas udržení konstantní teploty (min) |
|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| - | 40 | 2 |
| 20 | 280 | 1 |

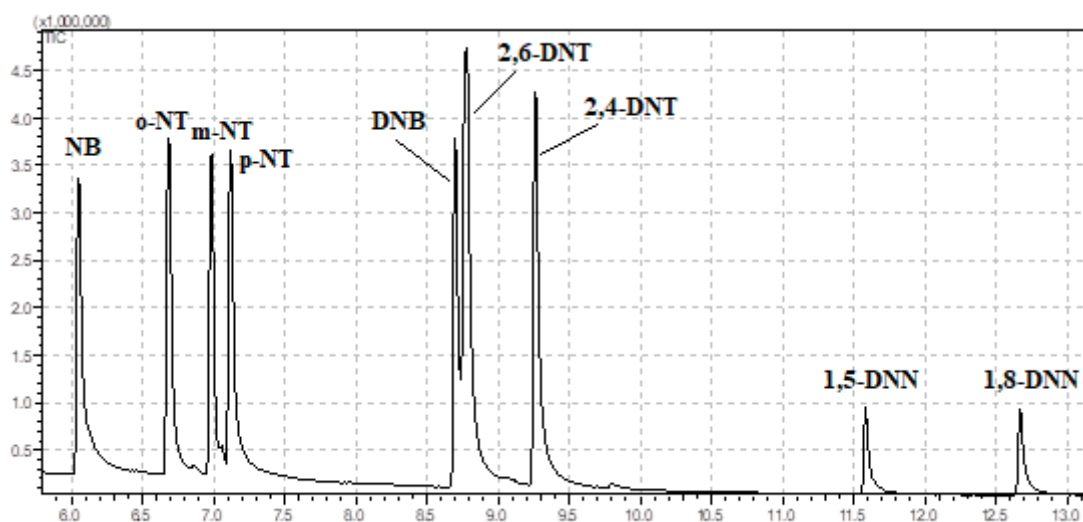
Tabulka 9 Podmínky měření kalibračních roztoků a vzorků

| | |
|------------------------------|-------------------------|
| Teplota nástřiku | 250 °C |
| Dávkovaný objem | 1 µl |
| Nosný plyn | Helium 5.0 Linde, Praha |
| Tlak plynu | 19,8 kPa |
| Celkový průtok | 5,1 ml/min |
| Průtok kolonou | 0,35 ml/min |
| Konstantní lineární rychlost | 30,0 cm/sec |
| Splitovací poměr | 1:5 |
| Teplota iontového zdroje | 200 °C |
| Teplota převodníku do MS | 200 °C |

Nejprve byly roztoky proměřeny v režimu SCAN pro získání retenčních časů stanovovaných látek a referenčních iontů. Záznam chromatogramu kalibračního roztoku 5 o přibližné koncentraci 100 mg/l je na obrázku 16. Retenční časy a hodnoty charakteristických i referenční iontů jsou uvedeny v tabulce 10. Tyto hodnoty byly následně použity pro měření v režimu SIM, který poskytuje větší citlivost měření. Pro identifikaci dvou izomerů dinitronaftalenu byl roztok proměřen v režimu SCAN s elektronovou ionizací a podle knihovny spekter byly izomery identifikovány jako 1,5-DNN a 1,8-DNN. Součástí příloh 1–9 jsou hmotnostní spektra jednotlivých látek měřena pomocí NCI.

Tabulka 10 Parametry analyzovaných látek pro použití k měření v režimu SIM

| Látka | Retenční čas (min) | Kvantifikátor (m/z) | Ref. ion 1 | Ref. ion 2 |
|----------------|--------------------|---------------------|------------|------------|
| NB | 6,055 | 123 | 107 | 124 |
| o-NT | 6,688 | 137 | 123 | 138 |
| m-NT | 6,988 | 137 | 121 | 138 |
| p-NT | 7,120 | 137 | 121 | 138 |
| DNB | 8,700 | 168 | 138 | 152 |
| 2,6-DNT | 8,776 | 182 | 152 | 183 |
| 2,4-DNT | 9,263 | 182 | 152 | 165 |
| 1,5-DNN | 11,584 | 218 | 188 | 219 |
| 1,8-DNN | 12,671 | 218 | 172 | 46 |



Obrázek 16 Chromatografický záznam standardního roztoku aromatických nitrosloúčenin v režimu SCAN

2.3.3 Optimalizace extrakce

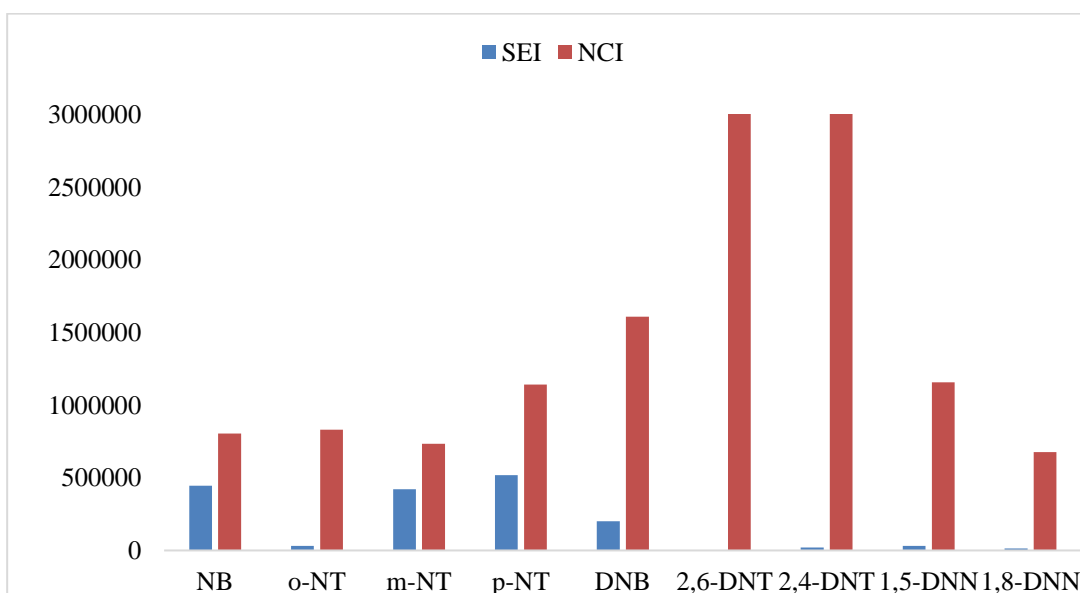
Optimalizace podmínek extrakce probíhala hledáním vhodného extrakčního rozpouštědla pro stanovované aromatické nitrosloúčeniny. Byla zkoumána extrakční účinnost tří rozpouštědel: acetonitrilu, methanolu a dichlormethanu. Byla porovnáována účinnost rozpouštědla bez a za použití sklotextilního tampónu, který byl použit pro odběr reálných vzorků. Na stěrový tampón bylo naneseno 100 μ l zásobního roztoku obsahujícího všechny

testované nitrosloučeniny v acetonu o koncentraci 500 mg/l, tampón byl vložen do eppendorfovy zkumavky a bylo přidáno 1500 μ l rozpouštědla. Jako referenční vzorek byl použit roztok 100 μ l zásobního roztoku nitrosloučenin o koncentraci 500 mg/l s 1500 μ l testovaného rozpouštědla, také v eppendorfově zkumavce. Obě zkumavky byly třepány 2 minuty na třepačce Vortex při 1600 otáčkách za minutu, roztoky byly proměřeny pomocí GC-MS v režimu SIM (NCI) za stejných podmínek jako kalibrační roztoky (viz tabulky 8 a 9, str. 45) a získané plochy píků byly vzájemně porovnány. Rozpouštědlo, které bylo vyhodnoceno jako nejúčinnější bylo poté použito k extrakci reálných vzorků. Při hledání optimálních podmínek extrakce bylo zkoušeno i použití odpaření rozpouštědla pod dusíkem. Tato metoda se ukázala jako neúčinná, jelikož při tomto procesu došlo i ke ztrátě analyzovaných látek.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Výsledky měření kalibrační řady

Roztok aromatických nitrosloúčenin obsahující NB, DNB, o-NT, m-NT, p-NT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 1,5-DNN a 1,8-DNN byl proměřen v režimu SIM za pomoci SEI a NCI. Porovnání těchto dvou ionizačních technik bylo provedeno na základě získaných ploch píků pro jednotlivé stanovované látky. Pro měření byl použit kalibrační roztok 4 o přibližné koncentraci 48 mg/l, který byl vždy proměřen třikrát. Porovnání průměrných naměřených ploch je na obrázku 17. Výrazně lepší výsledky měření poskytla technika negativní chemické ionizace, a proto bylo dále měřeno jen za použití NCI. Tabulka ploch píků látek kalibračního roztoku 4 pro SEI a NCI je v příloze 10.



Obrázek 17 Porovnání průměrných ploch píků látek kalibračního roztoku o přibližné koncentraci 48 mg/l v závislosti na použité technice ionizace

V režimu SIM NCI byla proměřena řada pěti připravených kalibračních roztoků. Každý roztok byl proměřen třikrát a výsledné plochy píků byly zprůměrovány. Byla provedena validace metody. Přípustná odchylka měření pro validaci je u prvního bodu kalibrační křivky 20 %, u všech ostatních bodů kalibrační křivky by neměla být chyba větší než 15 % [46]. U DNB, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 1,5-DNN a 1,8-DNN nebyla tato podmínka u prvního kalibračního bodu splněna a ani přeměření těchto bodů nevedlo k nápravě, proto byly tyto body z kalibrace odstraněny. Poslední bod kalibrace 2,6-DNT byl odstraněn z důvodu saturace detektoru. V tabulce 11 jsou uvedeny výsledné hodnoty validace kalibrační křivky.

Tabulka 11 Validace metody GC-MS

| Látka | Koncentrace skutečná (mg/l) | Koncentrace vypočítaná (mg/l) | Odchylka měření (rel. %) |
|----------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| NB | 5,8 | 5,799 | 0,01 |
| | 14,4 | 13,314 | 7,54 |
| | 28,8 | 32,960 | -14,44 |
| | 57,6 | 53,359 | 7,36 |
| | 120 | 121,167 | -0,97 |
| o-NT | 4,824 | 4,655 | 3,50 |
| | 12,06 | 12,219 | -1,32 |
| | 24,12 | 26,834 | -11,25 |
| | 48,24 | 44,312 | 8,14 |
| | 100,5 | 101,722 | -1,22 |
| m-NT | 4,584 | 4,877 | -6,39 |
| | 11,46 | 11,097 | 3,17 |
| | 22,92 | 26,045 | -13,64 |
| | 45,84 | 41,350 | 9,80 |
| | 95,5 | 96,933 | -1,50 |
| p-NT | 4,824 | 4,952 | -2,66 |
| | 12,06 | 12,140 | -0,66 |
| | 24,12 | 25,898 | -7,37 |
| | 48,24 | 45,273 | 6,15 |
| | 100,5 | 101,484 | -0,98 |
| DNB | 11,52 | 11,294 | 1,96 |
| | 23,04 | 25,599 | -11,11 |
| | 46,08 | 44,901 | 2,56 |
| | 96 | 96,036 | -0,04 |
| 2,6-DNT | 11,58 | 10,751 | 7,16 |
| | 23,16 | 27,716 | -19,67 |
| | 46,32 | 44,433 | 4,07 |
| 2,4-DNT | 11,76 | 10,939 | 6,98 |
| | 23,52 | 22,128 | 5,92 |
| | 47,04 | 46,780 | 0,55 |
| | 98 | 98,461 | -0,47 |
| 1,5-DNN | 11,4 | 10,987 | 3,62 |
| | 22,8 | 19,525 | 14,36 |
| | 45,6 | 47,080 | -3,25 |
| | 95 | 95,019 | -0,02 |
| 1,8-DNN | 11,4 | 11,342 | 0,51 |
| | 22,8 | 18,579 | 18,51 |
| | 45,6 | 45,777 | -0,39 |
| | 95 | 95,768 | -0,81 |

Příklad výpočtu odchylky měření o-nitrotoluenu u prvního bodu kalibrační křivky:

Průměrná plocha píku měřené látky = 98880

Rovnice regrese: $y = 18453x + 12974$

Výpočet koncentrace: $y = \frac{98880 - 12974}{18453} = 4,655 \text{ mg/l}$

100 % 4,824 mg/l

x % 4,655 mg/l

$x = 96,497$ **Odchylka měření: $100 - 96,497 = 3,50 \%$**

Parametry výsledných kalibračních křivek po validaci metody jsou v tabulce 12. Grafy kalibračních křivek jsou zobrazeny v přílohách 12–20. Tabulka průměrných ploch píků jednotlivých kalibračních roztoků je v příloze 11.

Tabulka 12 Parametry kalibrační křivky po validaci metody

| Látka | Rovnice regrese | | Odchylka R^2 | Rozsah kalibrace (mg/l) | LOQ (mg/l) | LOD (mg/l) |
|----------------|-----------------|---------|-------------------|----------------------------|---------------|---------------|
| | Směrnice | Úsek | | | | |
| NB | 14716 | 20705 | 0,9956 | 5,8 - 120 | 5,8 | 1,933 |
| o-NT | 18453 | 12974 | 0,9959 | 4,824 - 100,5 | 4,824 | 1,608 |
| m-NT | 18439 | -26820 | 0,9941 | 4,584 - 95,5 | 4,584 | 1,528 |
| p-NT | 24268 | 44421 | 0,9978 | 4,824 - 100,5 | 4,824 | 1,608 |
| DNB | 34634 | 65970 | 0,9983 | 11,52 - 96 | 11,52 | 3,84 |
| 2,6-DNT | 190208 | 800802 | 0,9627 | 11,58 - 46,32 | 11,58 | 3,86 |
| 2,4-DNT | 71208 | -351553 | 0,9999 | 11,76 - 98 | 11,76 | 3,92 |
| 1,5-DNN | 27333 | -140640 | 0,9976 | 11,4 - 95 | 11,4 | 3,8 |
| 1,8-DNN | 17449 | -133422 | 0,9974 | 11,4 - 95 | 11,4 | 3,8 |

LOQ – Limit kvantifikace – nejnižší bod kalibrace

LOD – Limit detekce – třetina LOQ

3.2 Výsledky optimalizace extrakce

Bylo zkoumáno použití vhodného extrakčního rozpouštědla pro stanovované aromatické nitrosloučeniny. Použita byla tato tři rozpouštědla: acetonitril, methanol a dichlormethan. Měření každého roztoku stanovované sloučeniny a rozpouštědla proběhlo třikrát a výsledné plochy píků byly zprůměrovány. Celková tabulka porovnávající průměrné plochy píků látek bez a za použití sklotextilního tampónu je v příloze 21. Porovnání účinnosti jednotlivých rozpouštědel ukazuje tabulka 13. Účinnost acetonitrilu se pohybovala v rozmezí

64–95,86 %, účinnost dichlormethanu v rozmezí 97,93–99,89 % a účinnost methanol v rozmezí 78,28–98,67 %. Jako nejlepší rozpouštědlo byl u všech standardních látek vyhodnocen dichlormethan, a proto byl použit jako extrakční rozpouštědlo pro úpravu při měření reálných vzorků.

Tabulka 13 Porovnání účinnosti testovaných rozpouštědel v závislosti na stanovované látce

| | Účinnost rozpouštědla (%) | | |
|----------------|---------------------------|---------------|----------|
| | Acetonitril | Dichlormethan | Methanol |
| NB | 90,87 | 99,67 | 90,82 |
| o-NT | 96,33 | 99,02 | 92,70 |
| m-NT | 87,36 | 99,34 | 96,93 |
| p-NT | 95,86 | 99,38 | 98,61 |
| DNB | 68,94 | 99,42 | 78,28 |
| 2,6-DNT | 89,26 | 99,72 | 85,77 |
| 2,4-DNT | 64,00 | 99,89 | 89,45 |
| 1,5-DNN | 77,68 | 99,45 | 98,67 |
| 1,8-DNN | 84,94 | 97,93 | 80,54 |

3.3 Výsledky měření reálných vzorků

V rámci řešení úkolu **Identifikace reziduí improvizovaných výbušnin fyzikálně-chemickými analytickými metodami za reálných podmínek po výbuchu** proběhly ve dnech 23.4. – 27.4. 2018 odpaly připravených vzorků výbušnin. Celkem byly odpáleny tři série reálných vzorků. Každý vzorek obsahoval vždy příslušnou nitrolátku, jednotlivé série odpalu se od sebe lišily použitou příměsí (viz tabulky 3, 4 a 5). Po odpálení náloží v uhelném dole Bílina byl odebrán vzorek z kovového plechu formou stěru sklotextilním tampónem, který byl poté uzavřen do skleněné nádoby. Takto připravené vzorky byly poté převezeny na Katedru analytické chemie Univerzity Pardubice a měřeny pomocí GC-MS. Jednotlivé tampóny obsahující reálný vzorek byly přendány do eppendorfovy zkumavky. Ke každému vzorku bylo přidáno 1500 µl dichlormethanu, aby došlo k extrakci zkoumané látky ze stěrového tampónu do použitého rozpouštědla. Vzorek byl třepán po dobu 2 minut na třepačce Vortex při 1600 otáčkách za minutu. V některých případech došlo po odpalu nálože vlivem vývoje vysokého tlaku k rozvíření okolní půdy a kovový plech byl zasypan hlínou. Z tohoto důvodu byly vzorky následně odstředovány 5 minut na odstředivce Spectrafuge 16M rychlostí 8. Nečistoty byly usazeny na dně zkumavky a pro analýzu byl odebrán roztok nad sedlinou.

Měření probíhalo na plynovém chromatografu GC-2010 s hmotnostním spektrometrem GCMS-TQ 8030 (Shimadzu), na kterém byl po doměření a vyhodnocení kalibračních křivek měněn filament. Z tohoto důvodu nebylo možné kvantifikovat aromatické nitrosloučeniny v reálných vzorcích, jelikož byly změněny parametry přístroje a z nedostatku času bohužel nebylo možné znovu připravit, přeměřit a vyhodnotit nové kalibrační roztoky. U reálných vzorků došlo proto pouze k identifikaci obsažených nitrolátek. Parametry přístroje byly nastaveny stejně jako při měření kalibračních roztoků, stejný byl zvolen i teplotní program (viz tabulky 8 a 9, str. 45). Vzorky byly měřeny v SIM módu s NCI.

Bylo analyzováno 5 vzorků z každé série odpalu, celkem tedy bylo k dispozici 15 reálných vzorků. Pro identifikaci aromatických nitrosloučenin byly porovnány retenční časy standardů (tabulka 10, str. 46) s retenčními časy naměřených píků ve vzorcích. Obsah aromatických nitrosloučenin v jednotlivých vzorcích ukazují tabulky 14, 15 a 16. Přítomnost dané sloučeniny je označena symbolem +, nepřítomnost zkratkou n.d. (nedetekováno).

Tabulka 14 Obsah nitrosloučenin ve vzorcích první série ve směsi s chlorečnanem draselným

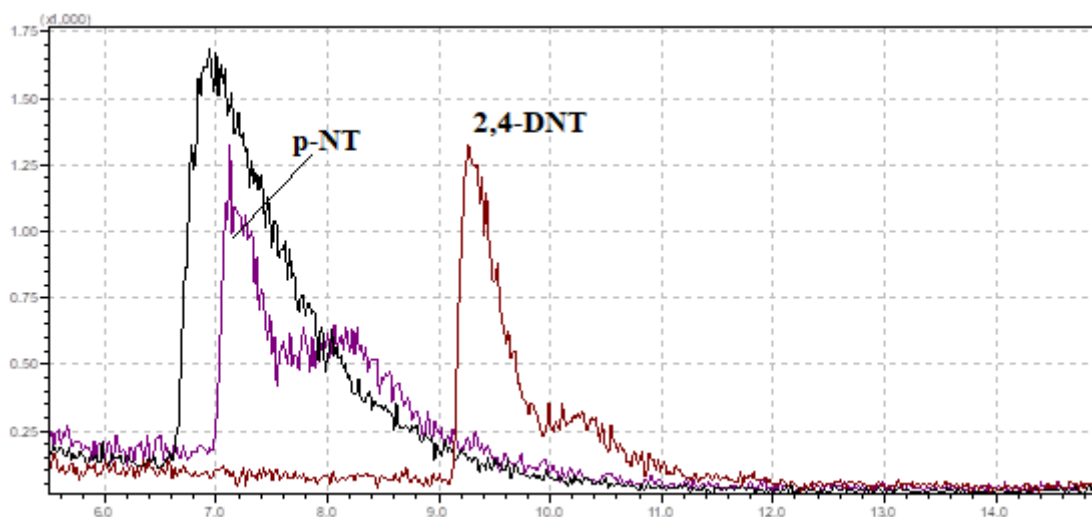
| | 18/01/02 – odpal NB | 18/01/06 – odpal DNB | 18/01/10 – odpal NT | 18/01/14 – odpal DNT | 18/01/22 – odpal DNN |
|----------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| NB | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| DNB | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| o-NT | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| m-NT | n.d. | n.d. | + | n.d. | n.d. |
| p-NT | + | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 2,6-DNT | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 2,4-DNT | + | n.d. | + | n.d. | n.d. |
| 1,5-DNN | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | + |
| 1,8-DNN | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | + |

Tabulka 15 Obsah nitrosloučenin ve vzorcích druhé série ve směsi s chloristanem draselným

| | 18/02/02 – odpal NB | 18/02/06 – odpal DNB | 18/02/10 – odpal NT | 18/02/14 – odpal DNT | 18/02/22 – odpal DNN |
|----------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| NB | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| DNB | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| o-NT | n.d. | n.d. | + | n.d. | n.d. |
| m-NT | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| p-NT | n.d. | n.d. | + | n.d. | n.d. |
| 2,6-DNT | n.d. | n.d. | + | n.d. | n.d. |
| 2,4-DNT | n.d. | n.d. | + | n.d. | n.d. |
| 1,5-DNN | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | + |
| 1,8-DNN | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | + |

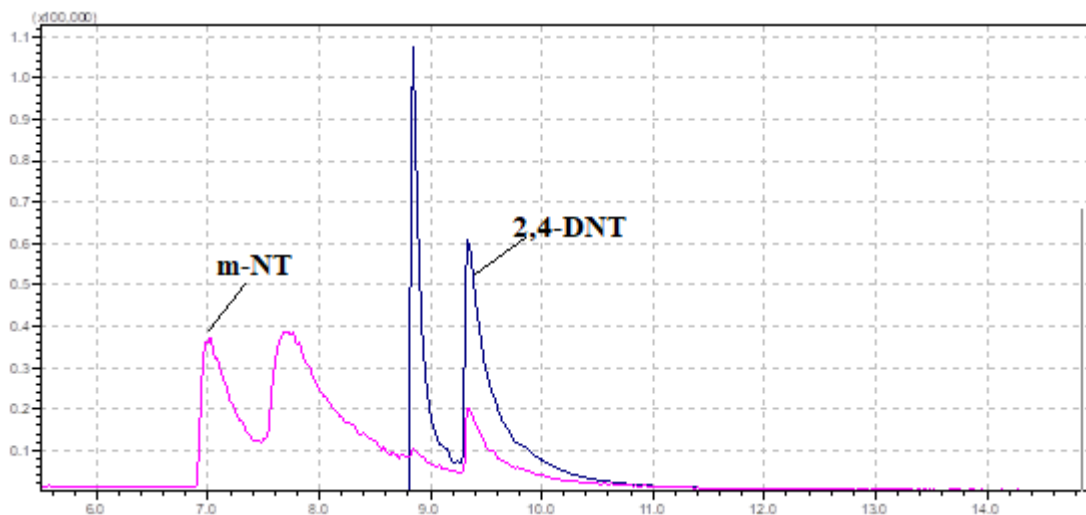
Tabulka 16 Obsah nitrosloúčenin ve vzorcích třetí série ve směsi s chloristanem amonným

| | 18/03/02 – odpal NB | 18/03/06 – odpal DNB | 18/03/10 – odpal NT | 18/03/14 – odpal DNT | 18/03/22 – odpal DNN |
|----------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| NB | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| DNB | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| o-NT | n.d. | n.d. | + | + | n.d. |
| m-NT | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | + |
| p-NT | n.d. | n.d. | + | + | n.d. |
| 2,6-DNT | n.d. | n.d. | n.d. | + | n.d. |
| 2,4-DNT | n.d. | n.d. | n.d. | + | n.d. |
| 1,5-DNN | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 1,8-DNN | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |



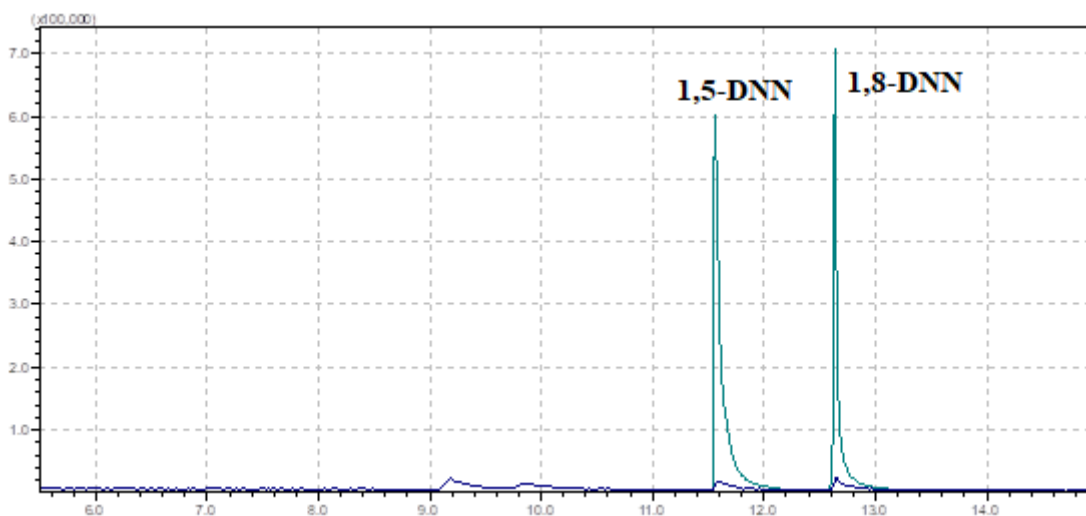
Obrázek 18 Chromatogram vzorku 18/01/02, odpal NB + chlorečnan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)

V prvním vzorku první série (18/01/02) byl odpalován nitrobenzen ve směsi s chlorečnanem draselným. Chromatogram vzorku je na obrázku 18. Po odpalu byl ve vzorku detekován p-NT a 2,4-DNT. Ve druhém vzorek první série (18/01/06) byl odpalován dinitrobenzen ve směsi s chlorečnanem draselným. Ve vzorku nebyla identifikována žádná z aromatických nitrosloúčenin.



Obrázek 19 Chromatogram vzorku 18/01/10, odpal NT + chlorečnan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)

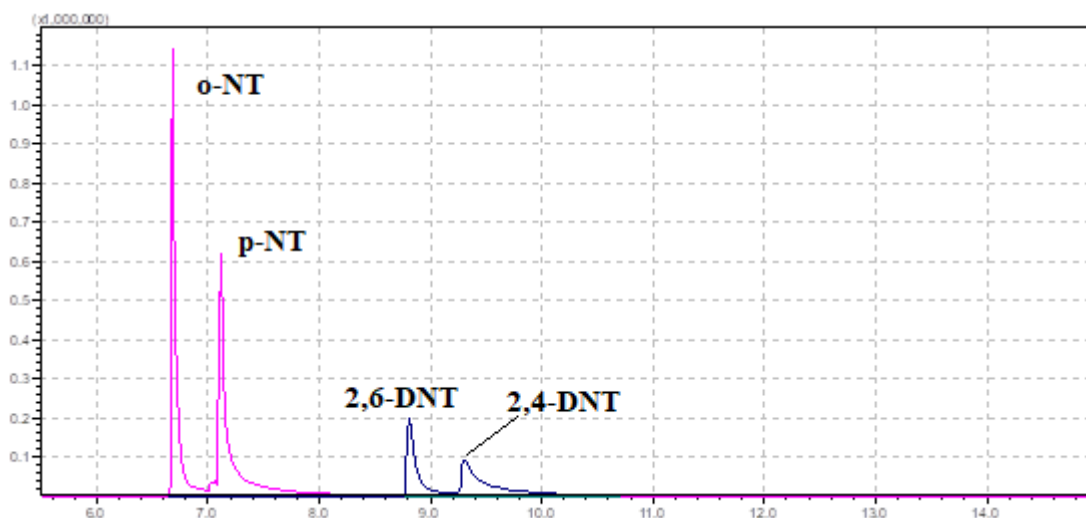
Ve třetím vzorku první série (18/01/10) byl odpalován nitrotoluen ve směsi s chlorečnanem draselným. Z chromatogramu na obrázku 19 je vidět detekce m-NT a 2,4-DNT. Ve čtvrtém vzorku první série (18/01/14) byl odpalován dinitrotoluen ve směsi s chlorečnanem draselným. V tomto vzorku nebyla detekována žádná z aromatických nitrosloučenin.



Obrázek 20 Chromatogram vzorku 18/01/22, odpal DNN + chlorečnan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)

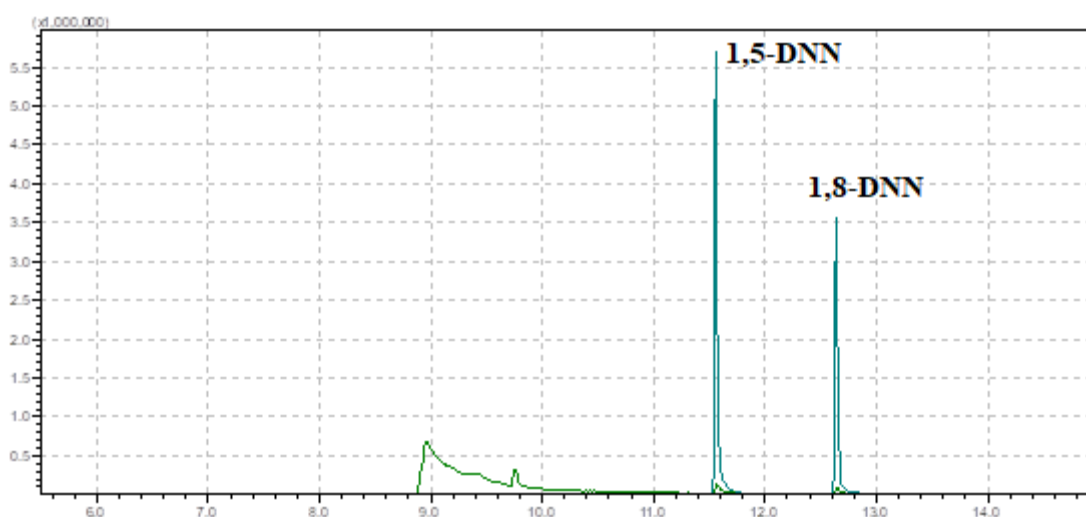
V posledním vzorku první série (18/01/22) byl odpalován dinitronaftalen ve směsi s chlorečnanem draselným. Jak je vidět z obrázku 20, ve vzorku byl detekován 1,5-DNN a 1,8-DNN.

V prvním vzorku druhé série (18/02/02) byl odpalován nitrobenzen ve směsi s chloristanem draselným. Ve vzorku nebyla detekována žádná z aromatických nitrosloúčenin. V druhém vzorku druhé série (18/02/06) byl odpalován dinitrobenzen ve směsi s chloristanem draselným. V tomto vzorku také nebyla detekována žádná z aromatických nitrosloúčenin.



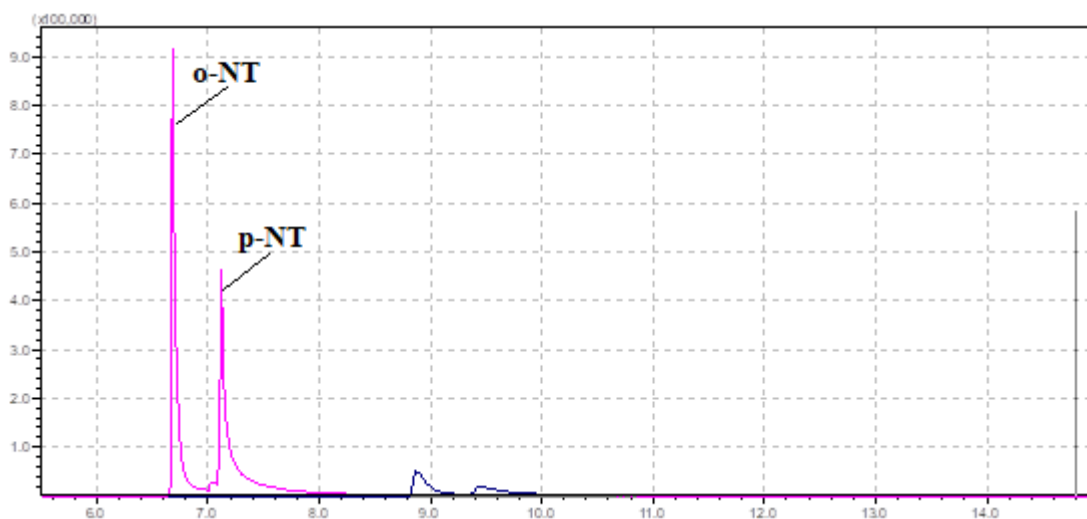
Obrázek 21 Chromatogram vzorku 18/02/10, odpal NT + chloristan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)

Ve třetím vzorku druhé série (18/02/10) byl odpalován nitrotoluen ve směsi s chloristanem draselným. Jak je vidět z chromatogramu na obrázku 21, ve vzorku byl detekován o-NT, p-NT, 2,6-DNT a 2,4-DNT. Ve čtvrtém vzorku druhé série (18/02/14) byl odpalován dinitrotoluen ve směsi s chloristanem draselným. Ve vzorku nebyla detekována žádná z aromatických nitrosloúčenin.



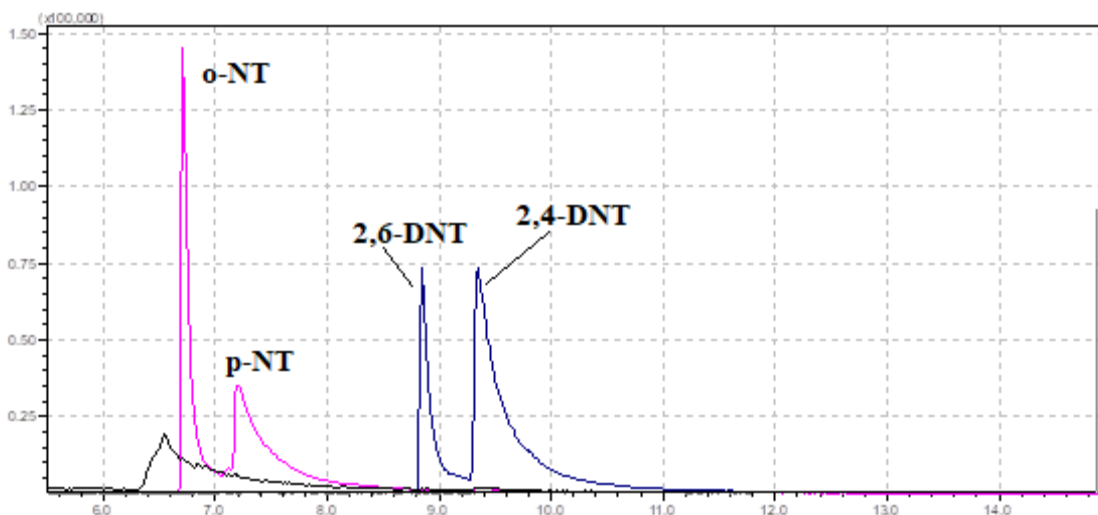
Obrázek 22 Chromatogram vzorku 18/02/22, odpal DNN + chloristan draselný, měřeno v SIM módu (NCI)

V pátém vzorku druhé série (18/02/22) byl odpalován dinitroaftalen ve směsi s chloristanem draselným. Jak je vidět z chromatogramu na obrázku 22, ve vzorku byl detekován 1,5-DNN a 1,8-DNN.

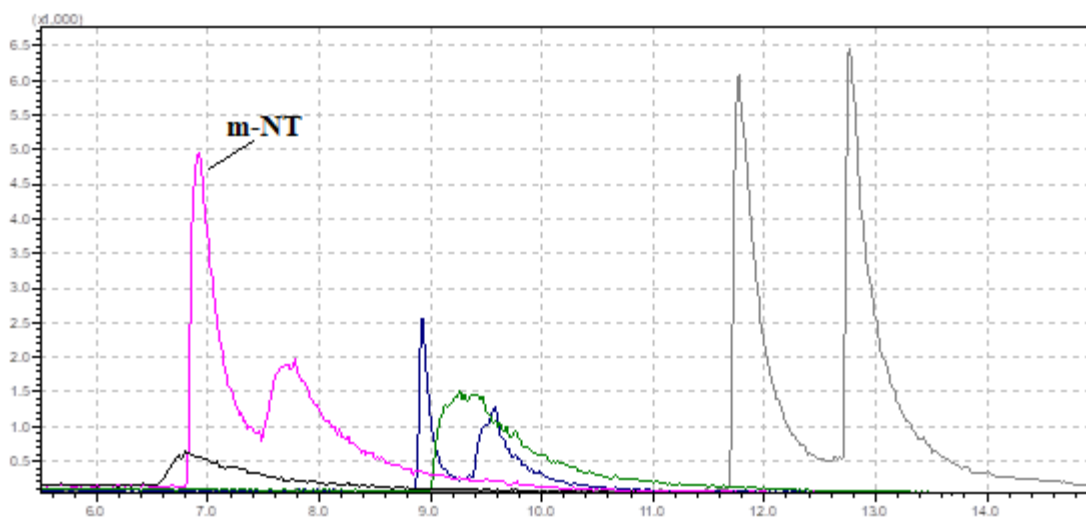


Obrázek 23 Chromatogram vzorku 18/03/10, odpal NT + chloristan amonný, měřeno v SIM módu (NCI)

V prvním vzorku třetí série (18/03/02) byl odpalován nitrobenzen ve směsi s chloristanem amonným. Ve vzorku nebyla detekována žádná z aromatických nitrosloúčenin. Ve druhém vzorku třetí série (18/03/06) byl odpalován dinitrobenzen ve směsi s chloristanem amonným. V tomto vzorku také nebyla detekována žádná z aromatických nitrosloúčenin. Ve třetím vzorku třetí série (18/03/10) byl odpalován nitrotoluen ve směsi s chloristanem amonným. Chromatogram vzorku je na obrázku 23. Vzorek obsahoval o-NT a p-NT.



Obrázek 24 Chromatogram vzorku 18/03/14, odpal DNT + chloristan amonný, měřeno v SIM módu (NCI)



Obrázek 25 Chromatogram vzorku 18/03/22, odpal DNN + chloristan amonný, měřeno v SIM módu (NCI)

Ve čtvrtém vzorku třetí série (18/03/14) byl odpalován dinitrotoluen ve směsi s chloristanem amonným. Jak je vidět z chromatogramu na obrázku 24, ve vzorku došlo k detekci o-NT, p-NT, 2,6-DNT a 2,4-DNT. V posledním vzorku třetí série (18/03/22) byl odpalován dinitronaftalen ve směsi s chloristanem amonným (obrázek 25). Ve vzorku byl detekován m-NT.

V některých vzorcích nebyla detekována žádná z aromatických nitrosloúčenin. Domnívám se, že to může být způsobeno shořením a zánikem látek během procesu výbuchu. Důvod přítomnosti i jiných aromatických nitrosloúčenin než těch, které byly navažovány, je nejistý. Po improvizovaném výbuchu došlo ve většině případů vlivem vývoje vysokých tlaků k rozvíření okolní půdy a kovový plech byl zasypán hlínou (obrázek 26), a jelikož nebyl každý jednotlivý experiment odpalu prováděn na novém místě, mohlo dojít ke kontaminaci vzorků právě tímto způsobem. Navíc byly nálože odpalovány na místě, kde již v minulých letech byly podobné experimenty prováděny a přetrvání nitrosloúčenin v půdě je možné. Vznik jiných nitrolátek je zřejmě způsoben i vývojem vysokých teplot a tlaků během procesu výbuchu.



Obrázek 26 Kovový plech po odpalu nálože, kontaminace půdou

4 ZÁVĚR

Hlavním cílem diplomové práce bylo optimalizovat metodu pro stanovení aromatických nitrosloučenin pomocí GC-MS, porovnat možnosti stanovení s využitím rozdílných možností ionizace a vypracovanou metodu ověřit na reálných vzorcích.

Teoretická část stručně popisuje vlastnosti aromatických nitrosloučenin a některé významné zástupce. Dále jsou v práci krátce popsány techniky plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie a jejich spojení, které je v dnešní době velmi často využívané. Teoretická část obsahuje literární rešerši zaměřenou na různé metody stanovení aromatických nitrosloučenin pomocí GC.

V experimentální části byly optimalizovány podmínky metody pro stanovení aromatických nitrosloučenin. Byly testovány různé parametry přístroje a teplotního programu. Následně byly porovnány možnosti stanovení s využitím elektronové ionizace (SEI) a negativní chemické ionizace (NCI). Jako výrazně lepší ionizační technika pro měření aromatických nitrosloučenin se ukázala NCI. Optimalizované podmínky metody byly poté použity pro měření kalibračních roztoků a reálných vzorků. Dále byla zkoumána účinnost extrakce nitrosloučenin ze sklotextilního tampónu testováním tří rozpouštědel (acetonitril, dichlormethan a methanol). Nejlepší účinnost pro všechny analyzované aromatické nitrosloučeniny vykazoval dichlormethan, proto byl poté použit pro extrakci reálných vzorků. Jeho účinnost se pohybovala v rozmezí 97,93–99,89 %. V poslední řadě je vypracovaná metoda aplikována k identifikaci aromatických nitrosloučenin v patnácti vzorcích improvizovaných výbušnin, které byly odpalovány v povrchových dolech katastru obce Bílina. Jelikož byl po doměření a vyhodnocení kalibrační řady měněn na používaném GC-MS přístroji filament a byly tím pádem změněny parametry přístroje, nebylo bohužel možné detekované nitrosloučeniny ve vzorcích kvantifikovat. V některých vzorcích nedošlo k detekci žádné aromatické nitrosloučeniny, což může být způsobeno shořením a zánikem látek během procesu výbuchu. U některých analyzovaných vzorcích byly detekovány i jiné aromatické nitrosloučeniny než ty, které byly navažovány. Téměř ve všech případech došlo po odpalu nálože k rozvíření okolní půdy. Kovový plech, ze kterého byl vzorek odebírán, byl zasypán hlínou, a tak mohlo dojít ke kontaminaci vzorku nitrosloučeninami, které přetrvávají v půdě z předchozích pokusných odpalů. Vznik jiných aromatických nitrosloučenin je zřejmě způsoben i vývojem vysokých teplot a tlaků během procesu výbuchu.

Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií vykazuje výhody obou technik a je v dnešní době velmi často využívána. Jedná se o spolehlivou, citlivou a velmi účinnou metodu stanovení těkavých látek. Technika je úsporná i vzhledem k nízké spotřebě vzorku. Použití GC-MS umožňuje rychlou a jednoduchou analýzu ke stanovení aromatických nitrosloučenin.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. JU, K.-S. a R. PARALES. Nitroaromatic Compounds, from Synthesis to Biodegradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. 2010, **74**(2), 250-272 [cit. 2018-02-16]. DOI: 10.1128/MMBR.00006-10. ISSN 1092-2172. Dostupné z: <http://mbr.asm.org/cgi/doi/10.1128/MMBR.00006-10>
2. Nitro compound. *Britannica Academic* [online]. Encyclopædia Britannica, b.r. [cit. 2018-02-16]. Dostupné z: <https://academic.eb.com/levels/collegiate/article/nitro-compound/55944>
3. POURETEDAL, H. a M. KESHAVARZ. Prediction of toxicity of nitroaromatic compounds through their molecular structures. *Journal of the Iranian Chemical Society* [online]. 2011, **8**(1), 78-89 [cit. 2018-0-16]. DOI: 10.1007/BF03246204. ISSN 1735-207X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF03246204>
4. GOOCH, Aminah, Natalia SIZOCHENKO, Bakhtiyor RASULEV, Leonid GORB a Jerzy LESZCZYNSKI. In vivo toxicity of nitroaromatics: A comprehensive quantitative structure-activity relationship study. *Environmental Toxicology and Chemistry* [online]. 2017, **36**(8), 2227-2233 [cit. 2018-02-16]. DOI: 10.1002/etc.3761. ISSN 07307268. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.3761>
5. BOOTH, Gerald. Nitro Compounds, Aromatic. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000 [cit. 2018-02-27]. DOI: 10.1002/14356007.a17_411. ISBN 3527306730. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/14356007.a17_411
6. PETERS, Robert. Dangerous properties of industrial materials, 7th edition (a three-volume set), by N. Irving Sax and Richard J. Lewis, Jr., Van Nostrand Reinhold, New York, NY, (1989). *Environmental Progress* [online]. 1991, **10**(3), 7-8 [cit. 2018-02-27]. DOI: 10.1002/ep.670100308. ISSN 02784491. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ep.670100308>

7. Dinitrobenzene (all isomers) [MAK Value Documentation, 1990]. *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety* [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2002, s. 148-169 [cit. 2018-03-09]. DOI: 10.1002/3527600418.mb2515454isme0001. ISBN 3527600418. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/3527600418.mb2515454isme0001>

8. WEN-ZONG, Whong, Norman SPECINER a Gordon EDWARDS. Mutagenic activity of tetryl, a nitroaromatic explosive, in three microbial test systems. *Toxicology Letters* [online]. 1980, **5**(1), 11-17 [cit. 2018-02-28]. DOI: 10.1016/0378-4274(80)90142-3. ISSN 03784274. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0378427480901423>

9. CLARKE, H. a E. TAYLOR. M -Nitrotoluene. *Organic Syntheses* [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2003, s. 91-91 [cit. 2018-04-11]. DOI: 10.1002/0471264180.os003.25. ISBN 0471264229. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/0471264180.os003.25>

10. WEN, Donghui, Guozheng LI, Rui XING, Seongjun PARK a Bruce RITTMANN. 2,4-DNT removal in intimately coupled photobiocatalysis: the roles of adsorption, photolysis, photocatalysis, and biotransformation. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2012, **95**(1), 263-272 [cit. 2018-04-11]. DOI: 10.1007/s00253-011-3692-6. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-011-3692-6>

11. Schematický náčrt plynového chromatografu. In: *Plynová chromatografia* [online]. Wikipédia, Slobodná encyklopédia, 2016 [cit. 2018-02-15]. Dostupné z: https://sk.wikipedia.org/wiki/Plynov%C3%A1_chromatografia#/media/File:SchemaGC.png

12. ZACHAŘ, Pavel a David SÝKORA. *Plynová chromatografie* [online]. In: . VŠCHT Praha, 2008, s. 1-6 [cit. 2018-02-15].

13. JANDERA, Pavel. *Atomová a molekulová spektroskopie se zaměřením na stopovou analýzu kontaminantů*. Vyd. 3. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2011. ISBN 978-80-7395-392-8.

14. FRIDECKÝ, D. a K. LEMR. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2012, **20**(41), 152-157.
15. HOLČAPEK, Michal. Hmotnostní analyzátoři. In: *Michal Holčapek - Mass Spectrometry Group* [online]. Univerzita Pardubice, 2017 [cit. 2018-02-15]. Dostupné z: <http://holcapek.upce.cz/vyuka-ms-org-anal.php>
16. HITES, R. Gas Chromatography Mass Spectrometry. SETTLE, Frank. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry* [online]. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall PTR, 1997, 609-626 [cit. 2018-03-03]. ISBN 978-0131773387.
17. PICHTEL, John. Distribution and Fate of Military Explosives and Propellants in Soil: A Review. *Applied and Environmental Soil Science* [online]. 2012, **2012**, 1-33 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1155/2012/617236. ISSN 1687-7667. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/aess/2012/617236/>
18. Solid Phase Extraction. *Affinisep* [online]. Petit Couronne - France, b.r. [cit. 2018-03-14]. Dostupné z: <http://www.affinisep.com/technology/solid-phase-extraction/>
19. THOMAS, Jennifer, Christopher DONNELLY, Erin LLOYD, Robert MOTHERSHEAD a Mark MILLER. Development and validation of a solid phase extraction sample cleanup procedure for the recovery of trace levels of nitro-organic explosives in soil. *Forensic Science International* [online]. 2018, **284**, 65-77 [cit. 2018-03-14]. DOI: 10.1016/j.forsciint.2017.12.018. ISSN 03790738. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073817305340>
20. BASHEER, Chanbasha, Anass ALNEDHARY, B.S. RAO a Hian LEE. Determination of carbamate pesticides using micro-solid-phase extraction combined with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2009, **1216**(2), 211-216 [cit. 2018-03-20]. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.11.042. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967308020219>
21. ZAREI, Ali, Maryam NEDAEI a Sohrab GHORBANIAN. Application of deep eutectic solvent based magnetic colloidal gel for dispersive solid phase extraction of ultra-trace amounts of some nitroaromatic compounds in water samples. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2017, **246**, 58-65 [cit. 2018-03-20]. DOI: 10.1016/j.molliq.2017.09.039.

ISSN 01677322. Dostupné z:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167732217322584>

22. VAS, György a Károly VÉKEY. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry* [online]. 2004, **39**(3), 233-254 [cit. 2018-03-20]. DOI: 10.1002/jms.606. ISSN 1076-5174. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jms.606>
23. FARHADI, Khalil, Shayesteh BOCHANI, Mehdi HATAMI, Rahim MOLAEI a Hossein PIRKHARRATI. Gas chromatographic detection of some nitro explosive compounds in soil samples after solid-phase microextraction with carbon ceramic copper nanoparticle fibers. *Journal of Separation Science* [online]. 2014, **37**(13), 1578-1584 [cit. 2018-03-20]. DOI: 10.1002/jssc.201400144. ISSN 16159306. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jssc.201400144>
24. SUN, Tonghua, Jinping JIA, Nenghu FANG a Yalin WANG. Application of novel activated carbon fiber solid-phase, microextraction to the analysis of chlorinated hydrocarbons in water by gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2005, **530**(1), 33-40 [cit. 2018-04-09]. DOI: 10.1016/j.aca.2004.08.042. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267004010530>
25. FARHADI, Khalil, Ramin MALEKI a Raheleh TAHMASEBI. A sol-gel based solid phase microextraction fiber for the analysis of aliphatic alcohols in apple juices. *Journal of Separation Science* [online]. 2010, **33**(1), 88-92 [cit. 2018-04-09]. DOI: 10.1002/jssc.200900472. ISSN 16159306. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jssc.200900472>
26. MEHDINIA, Ali, Mir MOUSAVI a Mojtaba SHAMSIPUR. Nano-structured lead dioxide as a novel stationary phase for solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* [online]. 2006, **1134**(1-2), 24-31 [cit. 2018-04-09]. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.08.087. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967306016682>

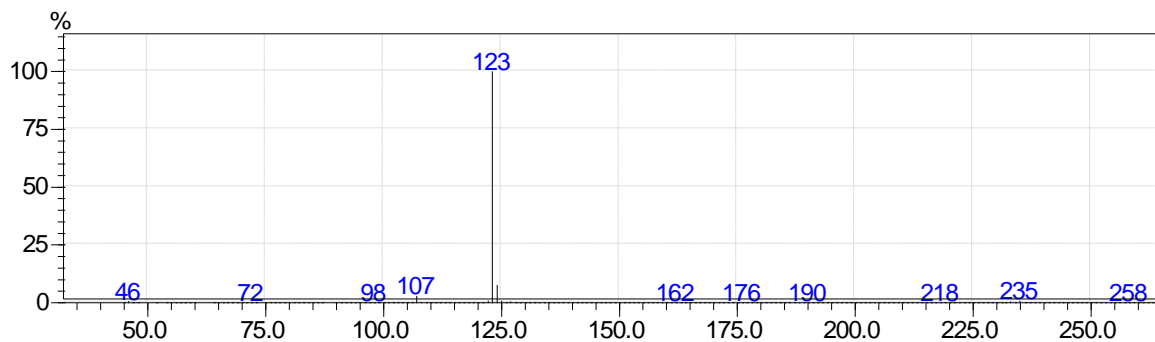
27. ZHAO, Qichao, Jonathan WAJERT a Jared ANDERSON. Polymeric Ionic Liquids as CO₂ Selective Sorbent Coatings for Solid-Phase Microextraction. *Analytical Chemistry* [online]. 2010, **82**(2), 707-713 [cit. 2018-04-09]. DOI: 10.1021/ac902438k. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac902438k>
28. JÖNSSON, S., L. GUSTAVSSON a B. VAN BAVEL. Analysis of nitroaromatic compounds in complex samples using solid-phase microextraction and isotope dilution quantification gas chromatography–electron-capture negative ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2007, **1164**(1-2), 65-73 [cit. 2018-04-04]. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.07.023. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967307012587>
29. ZHANG, Gui-Jiang, Xin ZHOU, Xiao-Huan ZANG, Zhi LI, Chun WANG a Zhi WANG. Analysis of nitrobenzene compounds in water and soil samples by graphene composite-based solid-phase microextraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry. *Chinese Chemical Letters* [online]. 2014, **25**(11), 1449-1454 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.ccllet.2014.05.049. ISSN 10018417. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1001841714002617>
30. YANG, Liu, Rana SAID a Mohamed ABDEL-REHIM. Sorbent, device, matrix and application in microextraction by packed sorbent (MEPS): A review. *Journal of Chromatography B* [online]. 2017, **1043**, 33-43 [cit. 2018-04-11]. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.10.044. ISSN 15700232. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023216311187>
31. MOEIN, Mohammad, Rana SAID a Mohamed ABDEL-REHIM. Microextraction by packed sorbent. *Bioanalysis* [online]. 2015, **7**(17), 2155-2161 [cit. 2018-04-11]. DOI: 10.4155/bio.15.154. ISSN 1757-6180. Dostupné z: <http://www.future-science.com/doi/10.4155/bio.15.154>
32. *MEPS™ - Micro Extraction by Packed Sorbent* [online]. In: . SGE Analytical Science, 2010, s. 2-3 [cit. 2018-04-11]. Dostupné z: <https://www.glsciences.eu/sge/meps-spe.pdf>
33. DHINGRA, Gaurav, Pooja BANSAL, Nidhi DHINGRA, Susheela RANI a Ashok MALIK. Development of a microextraction by packed sorbent with gas chromatography-

- mass spectrometry method for quantification of nitroexplosives in aqueous and fluidic biological samples. *Journal of Separation Science* [online]. 2018, **41**(3), 639-647 [cit. 2018-04-09]. DOI: 10.1002/jssc.201700470. ISSN 16159306. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jssc.201700470>
34. OPEKAR, František, Ivan JELÍNEK, Petr RYCHLOVSKÝ a Zbyněk PLZÁK. *Základní analytická chemie*. 1. vydání. Univerzita Karlova Praha: Karolinum, 2003. ISBN 80-246-0553-8.
 35. BORKOVCOVÁ, Ivana a Romana KOSTRHOUNOVÁ. *Extrakční metody: Studijní materiál* [online]. In: . Brno, 2013, s. 3 [cit. 2018-04-14]. Dostupné z: <http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/pub-files/realizovane-klicove-aktivity/zs-2013-2014/h3cp1/index/h3cp1---extrakcni-metody---studijni-material-zs-13-14.pdf>
 36. CORTADA, Carol, Lorena VIDAL a Antonio CANALS. Determination of nitroaromatic explosives in water samples by direct ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta* [online]. 2011, **85**(5), 2546-2552 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.08.011. ISSN 00399140. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914011007119>
 37. TIMOTHY J. MASON., . *Sonochemistry*. Repr. Oxford: Oxford Univ. Press, 2005. ISBN 9780198503712.
 38. DARRACH, M., A. CHUTJIAN a G. PLETT. Trace Explosives Signatures from World War II Unexploded Undersea Ordnance. *Environmental Science & Technology* [online]. 1998, **32**(9), 1354-1358 [cit. 2018-04-16]. DOI: 10.1021/es970992h. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es970992h>
 39. PSILLAKIS, Eleftheria a Nicolas KALOGERAKIS. Solid-phase microextraction versus single-drop microextraction for the analysis of nitroaromatic explosives in water samples. *Journal of Chromatography A* [online]. 2001, **938**(1-2), 113-120 [cit. 2018-04-16]. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)01417-0. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967301014170>
 40. PSILLAKIS, Eleftheria a Nicolas KALOGERAKIS. Application of solvent microextraction to the analysis of nitroaromatic explosives in water samples. *Journal of*

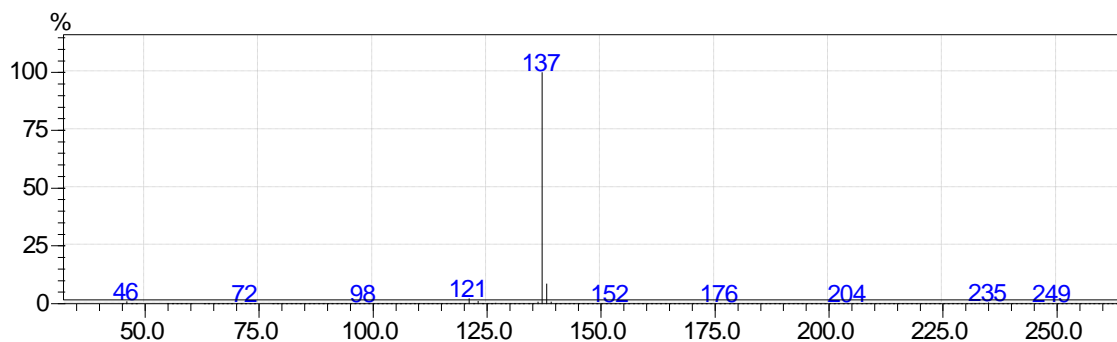
- Chromatography A* [online]. 2001, **907**(1-2), 211-219 [cit. 2018-04-16]. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)01017-7. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967300010177>
41. SPARR ESKILSSON, Cecilia a Erland BJÖRKLUND. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, **902**(1), 227-250 [cit. 2018-04-18]. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00921-3. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967300009213>
42. KJELLSTRÖM, Ann, Mona BRANTLIND a Carina ELDSÄTER. Optimized microwave extraction for trace detection of 2,4,6-trinitrotoluene in soil samples. *Chemosphere* [online]. 2008, **71**(9), 1701-1708 [cit. 2018-05-09]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.01.004. ISSN 00456535. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653508000076>
43. SENEVIRATNE, Chinthaka, Suman GHORAI a Kermit MURRAY. Laser desorption sample transfer for gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* [online]. 2016, **30**(1), 89-94 [cit. 2018-04-11]. DOI: 10.1002/rcm.7419. ISSN 09514198. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/rcm.7419>
44. JJUNJU, Fred, Simon MAHER, Anyin LI, Sarfaraz SYED, Barry SMITH, Ron HEEREN, Stephen TAYLOR a R. COOKS. Hand-Held Portable Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization Ion Source for in Situ Analysis of Nitroaromatic Explosives. *Analytical Chemistry* [online]. 2015, **87**(19), 10047-10055 [cit. 2018-04-13]. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b02684. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.5b02684>
45. COTTE-RODRIGUEZ, Ismael, Zoltán TAKÁTS, Nari TALATY, Huanwen CHEM a Graham COOKS. Desorption Electrospray Ionization of Explosives on Surfaces: Sensitivity and Selectivity Enhancement by Reactive Desorption Electrospray Ionization. *Analytical chemistry* [online]. 2005, **77**(21) [cit. 2018-04-15]. DOI: 10.1021/ac050995+. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac050995%2B>

46. SUCHÁNEK, Miloslav a David MILDE. KVALIMETRIE 20. Praha : EURACHEM-ČR, 2015. ISBN 978-80-86322-00-1.

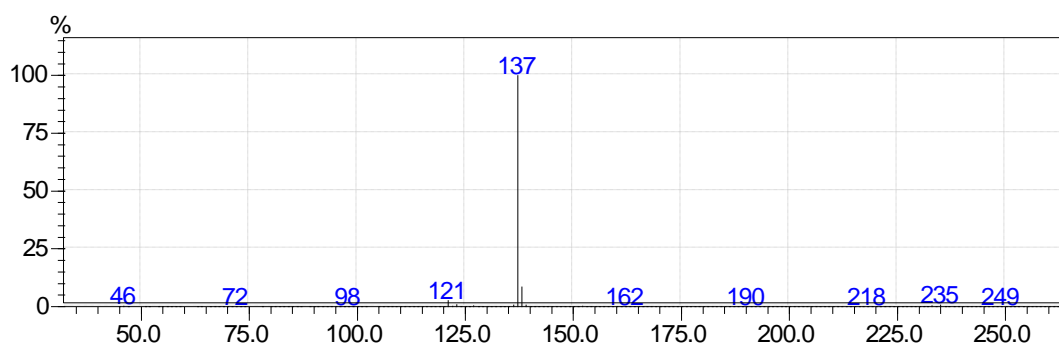
PŘÍLOHY



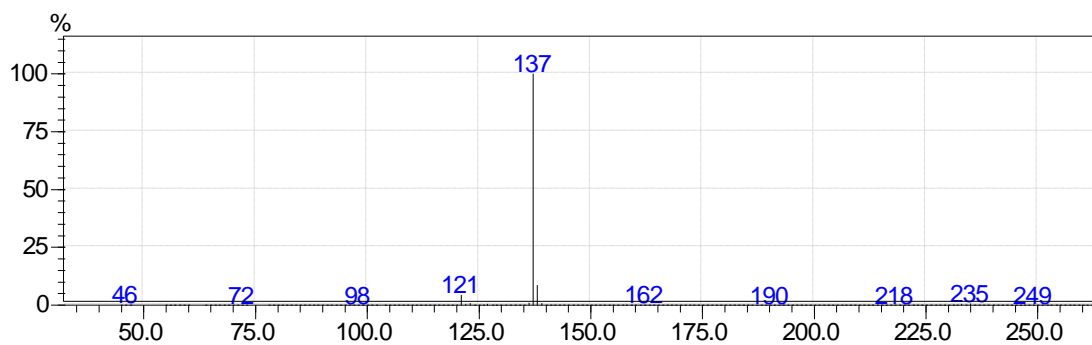
Příloha 1 – Hmotnostní spektrum nitrobenzenu, NCI



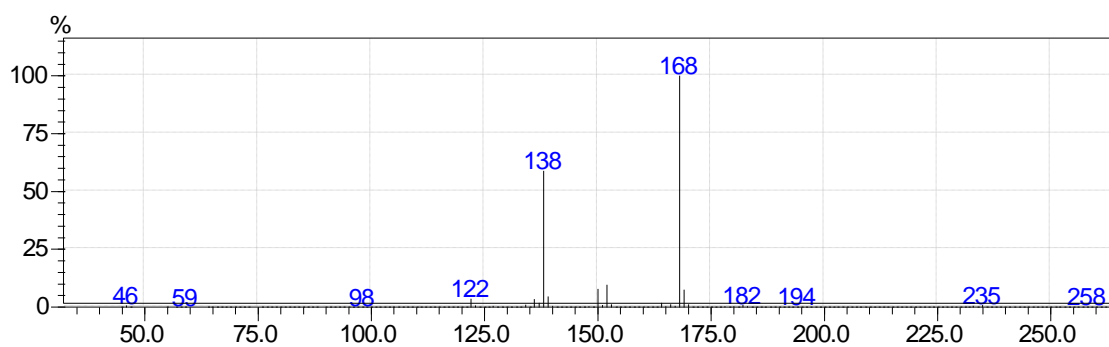
Příloha 2 – Hmotnostní spektrum o-nitrotoluenu, NCI



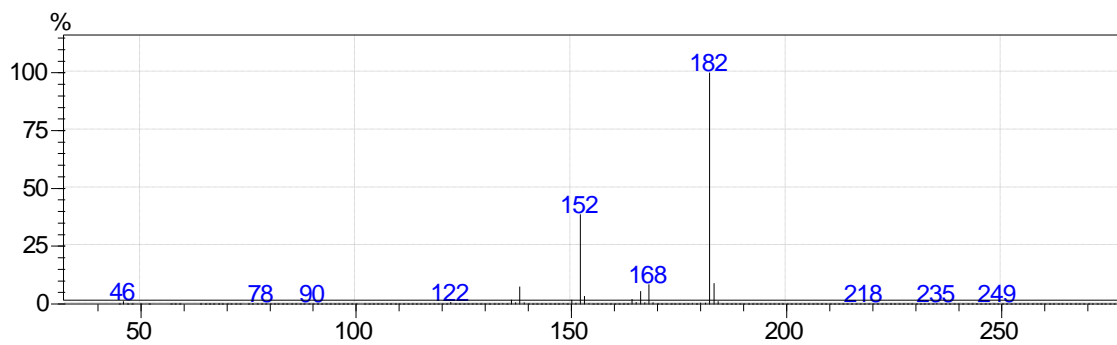
Příloha 3 – Hmotnostní spektrum m-nitrotoluenu, NCI



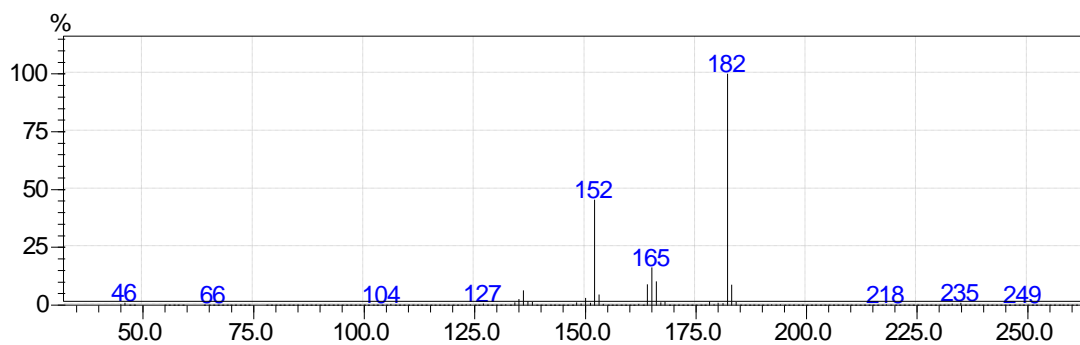
Příloha 4 – Hmotnostní spektrum p-nitrotoluenu, NCI



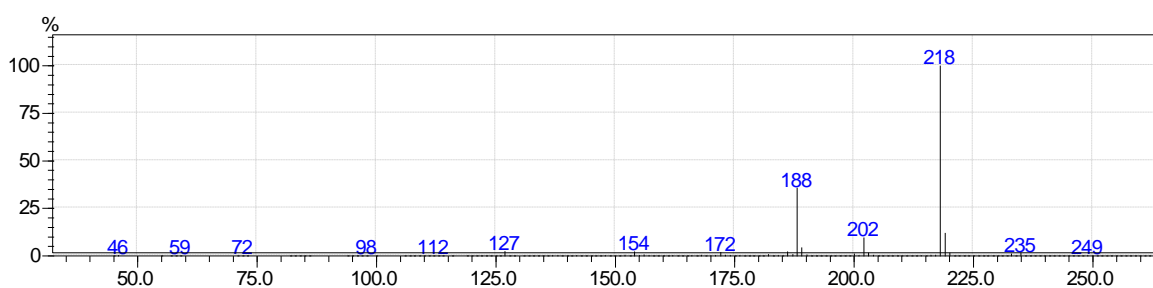
Příloha 5 – Hmotnostní spektrum dinitrobenzenu, NCI



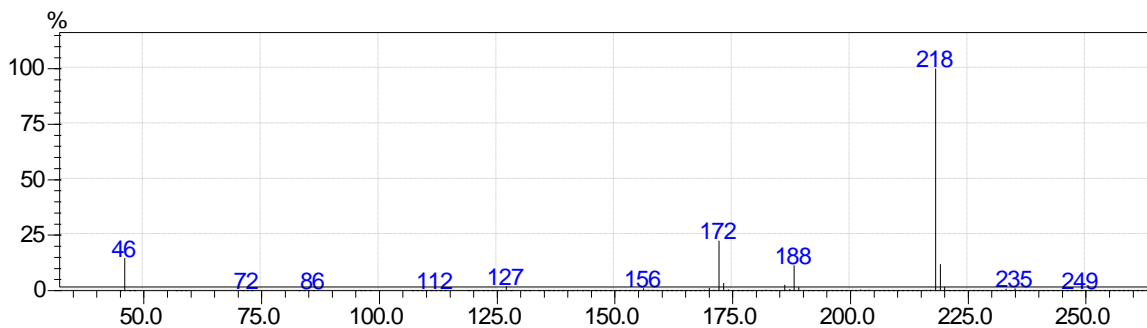
Příloha 6 – Hmotnostní spektrum 2,6-dinitrotoluenu, NCI



Příloha 7 – Hmotnostní spektrum 2,4-dinitrotoluenu, NCI



Příloha 8 – Hmotnostní spektrum 1,5-dinitronaftalenu, NCI



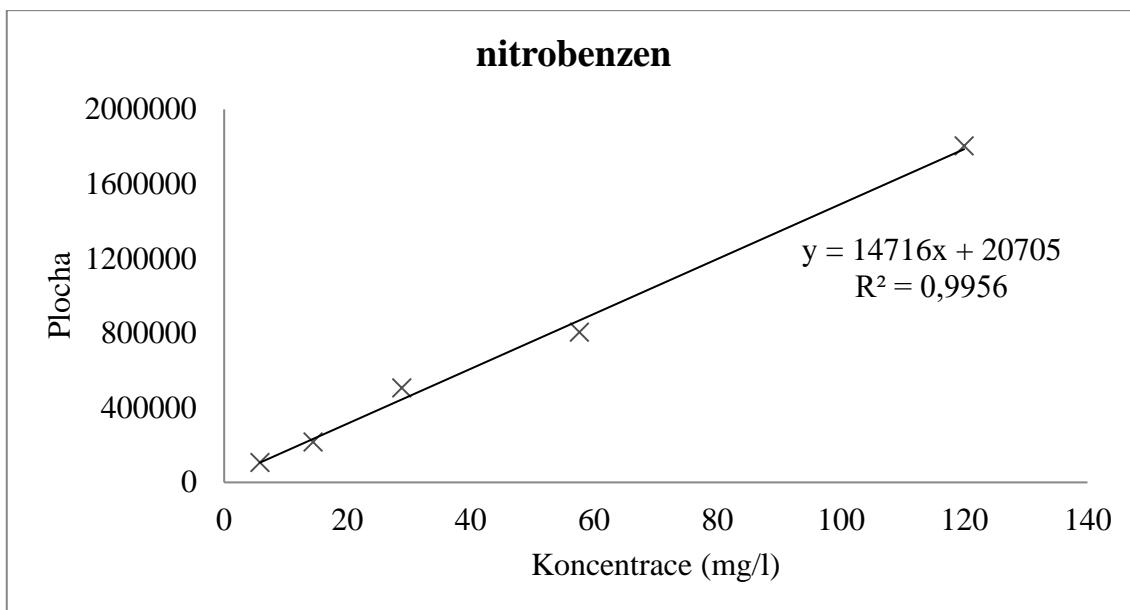
Příloha 9 – Hmotnostní spektrum 1,8-dinitronaftalenu, NCI

Příloha 10 – Tabulka ploch piků látek kalibračního roztoku 4 o přibližné koncentraci 48 mg/l pro SEI a NCI, průměr ze tří měření, relativní směrodatná odchylka byla u všech hodnot do 10 %

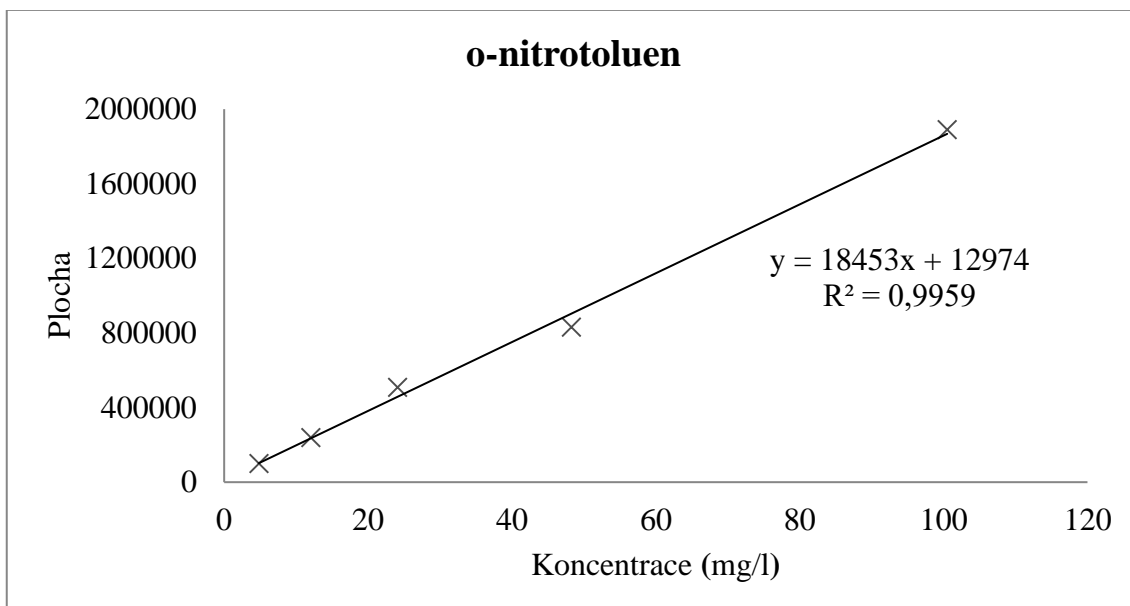
| Látka | Plocha píku | |
|----------------|----------------|------------------|
| | SEI | NCI |
| NB | 444824 ± 64268 | 805935 ± 19163 |
| o-NT | 31570 ± 1112 | 830661 ± 23434 |
| m-NT | 421046 ± 11048 | 735630 ± 23524 |
| p-NT | 517971 ± 6542 | 1143113 ± 46962 |
| DNB | 200265 ± 8296 | 1610920 ± 97617 |
| 2,6-DNT | 1145 ± 151 | 9360873 ± 303442 |
| 2,4-DNT | 19486 ± 706 | 3012548 ± 124741 |
| 1,5-DNN | 31098 ± 1797 | 1158965 ± 40892 |
| 1,8-DNN | 13213 ± 528 | 678235 ± 15294 |

Příloha 11 – Tabulka průměrných ploch piků jednotlivých kalibračních roztoků, průměr ze tří měření, relativní směrodatná odchylka byla u všech hodnot do 10 %

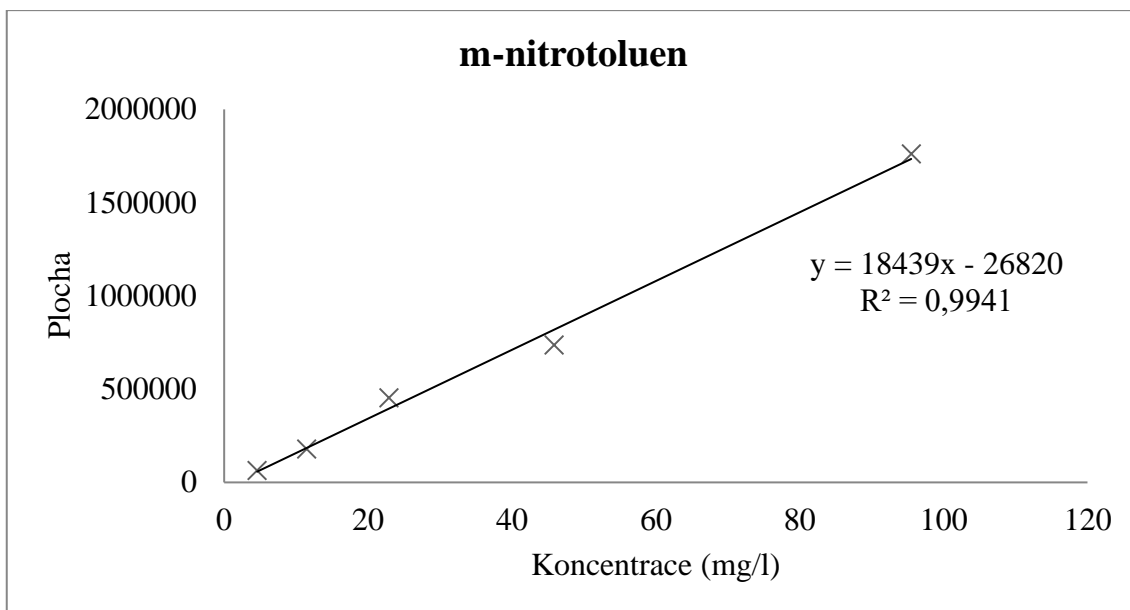
| Látka | Plocha | | | | |
|----------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | Kalibrační roztok 1 (4,8 mg/l) | Kalibrační roztok 2 (12 mg/l) | Kalibrační roztok 3 (24 mg/l) | Kalibrační roztok 4 (48 mg/l) | Kalibrační roztok 5 (100 mg/l) |
| NB | 106048 ± 7654 | 216632 ± 5000 | 505741 ± 3649 | 805935 ± 19163 | 1803795 ± 29576 |
| o-NT | 98880 ± 2614 | 238457 ± 9374 | 508137 ± 19081 | 830661 ± 23434 | 1890053 ± 30610 |
| m-NT | 63106 ± 4528 | 177791 ± 5149 | 453427 ± 21274 | 735630 ± 23524 | 1760533 ± 33051 |
| p-NT | 164604 ± 3485 | 339034 ± 25084 | 672908 ± 30518 | 1143113 ± 46962 | 2507227 ± 53658 |
| DNB | 157669 ± 6497 | 433817 ± 17612 | 934845 ± 59914 | 1610920 ± 97617 | 3401970 ± 84079 |
| 2,6-DNT | 881966 ± 29233 | 2502708 ± 139887 | 5957061 ± 308434 | 9360873 ± 303442 | - |
| 2,4-DNT | 225551 ± 11543 | 506837 ± 3196 | 1289089 ± 58170 | 3012548 ± 124741 | 6625623 ± 144082 |
| 1,5-DNN | 79010 ± 1267 | 192535 ± 9134 | 421148 ± 31688 | 1158965 ± 40892 | 2442586 ± 78560 |
| 1,8-DNN | 37052 ± 1079 | 95738 ± 3464 | 218160 ± 16948 | 678235 ± 15294 | 1523879 ± 37357 |



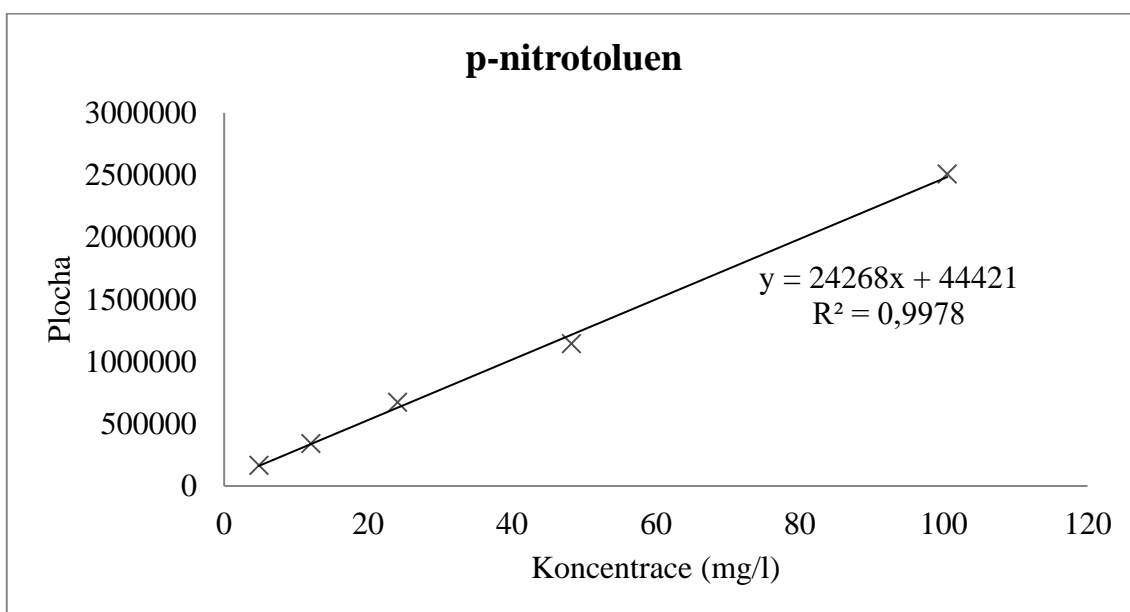
Příloha 12 – Kalibrační křivka nitrobenzenu, závislost plochy píku na koncentraci



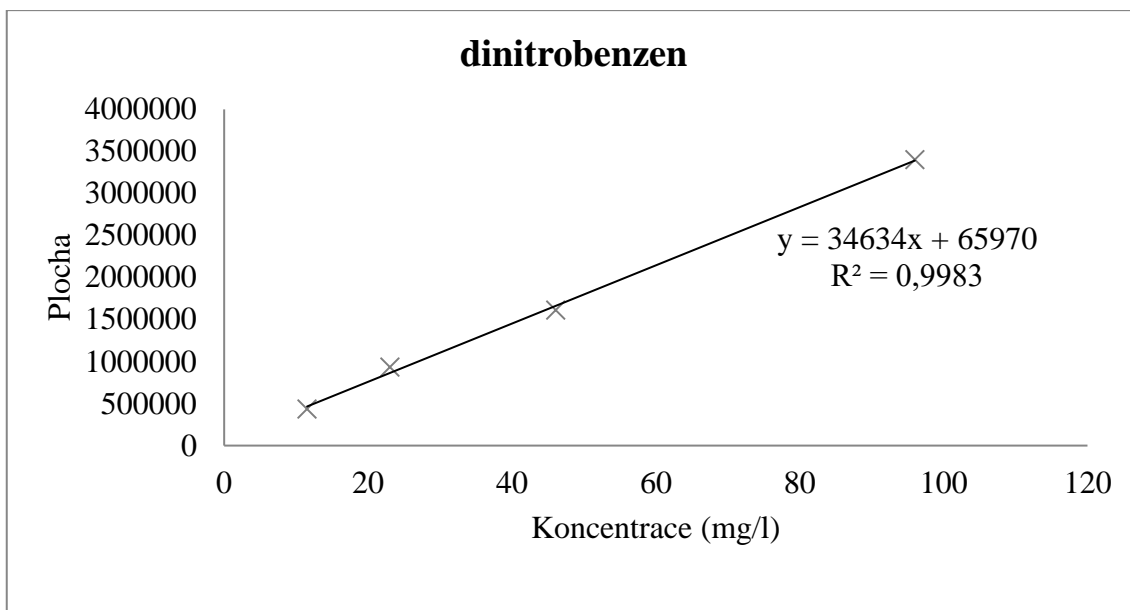
Příloha 13 – Kalibrační křivka o-nitrotoluenu, závislost plochy píku na koncentraci



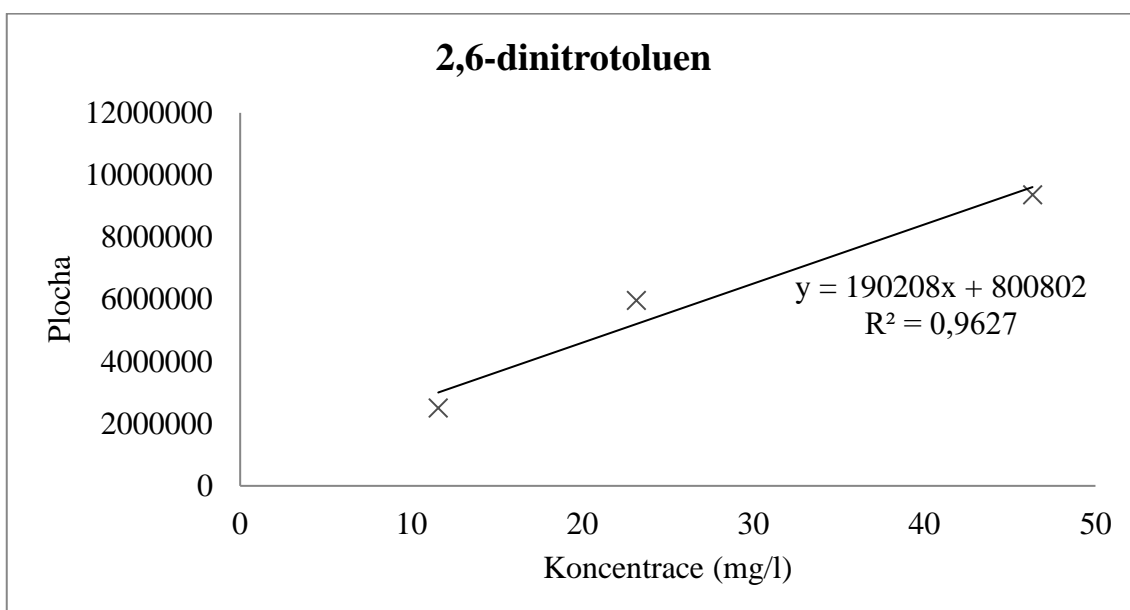
Příloha 14 – Kalibrační křivka m-nitrotoluen, závislost plochy píku na koncentraci



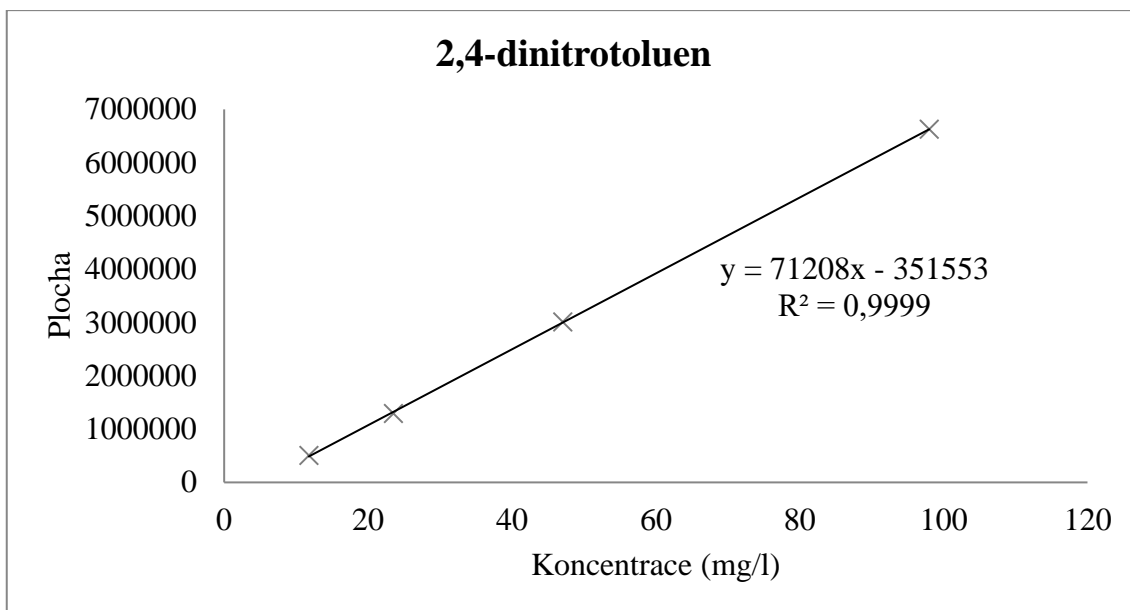
Příloha 15 – Kalibrační křivka p-nitrotoluen, závislost plochy píku na koncentraci



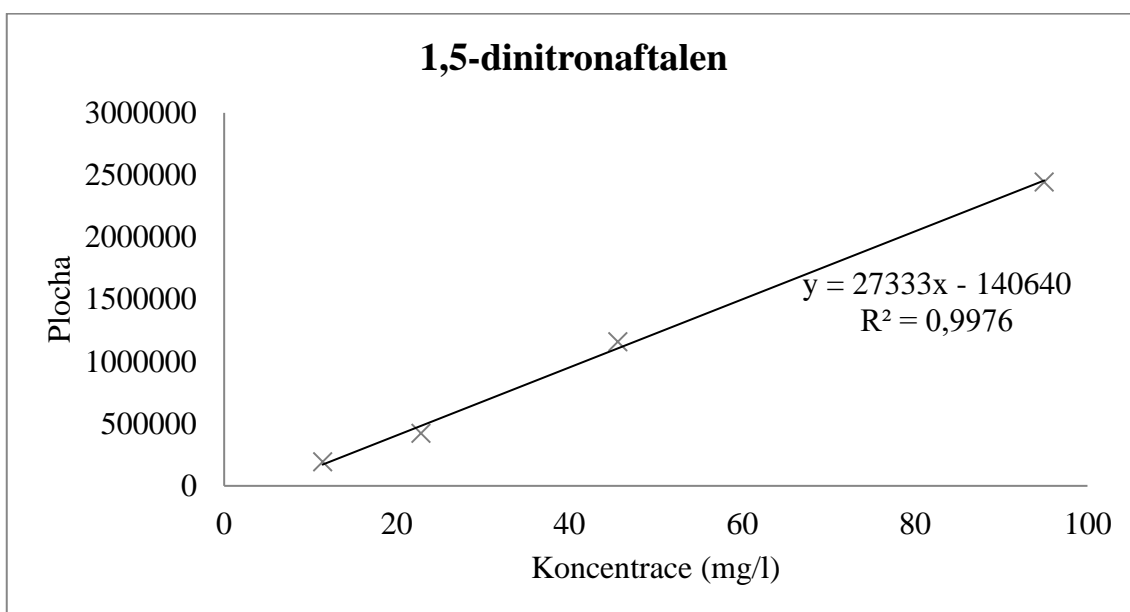
Příloha 16 – Kalibrační křivka dinitrobenzenu, závislost plochy píku na koncentraci



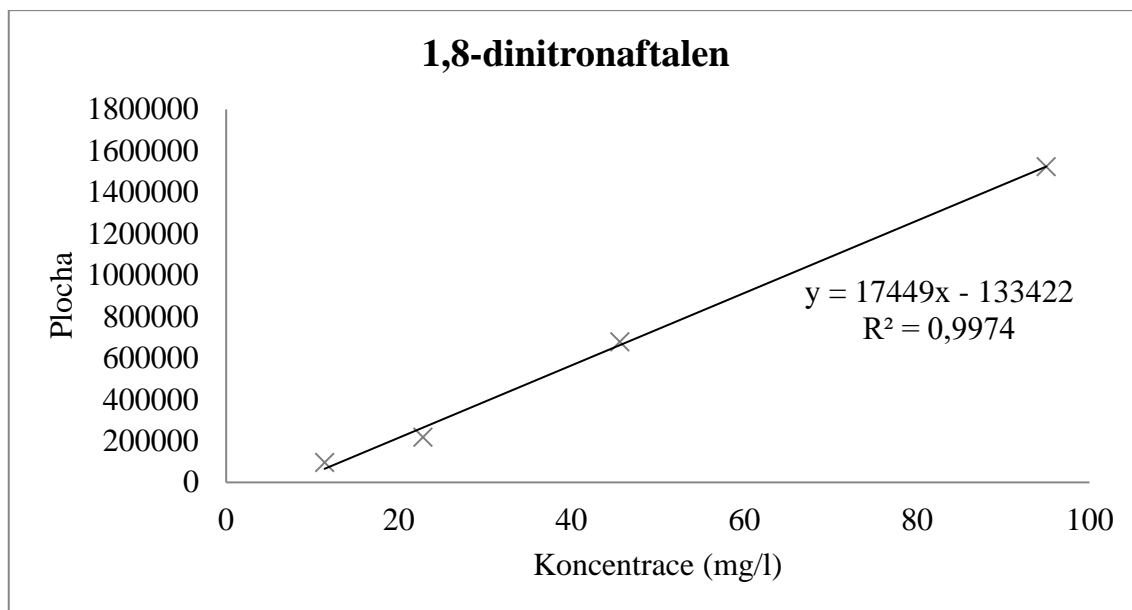
Příloha 17 – Kalibrační křivka 2,6-dinitrotoluenu, závislost plochy píku na koncentraci



Příloha 18 – Kalibrační křivka 2,4-dinitrotoluen, závislost plochy píku na koncentraci



Příloha 19 – Kalibrační křivka 1,5-dinitronaftalenu, závislost plochy píku na koncentraci



Příloha 20 – Kalibrační křivka 1,8-dinitronaftalenu, závislost plochy piku na koncentraci

Příloha 21 - Tabulka porovnávací plochy piků látek (průměr ze tří měření) bez a za použití sklotextilního tampónu a účinnost použitých rozpouštědel

| | | Plocha píku | | | | | | | | |
|----------------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | NB | o-NT | m-NT | p-NT | DNB | 2,6-DNT | 2,4-DNT | 1,5-DNN | 1,8-DNN |
| Acetonitril | Bez tamponu | 3185641 | 4439403 | 3902565 | 3734529 | 2294071 | 4523146 | 5246462 | 860649 | 441249 |
| | S tamponem | 2894649 | 4276339 | 3409428 | 3579742 | 1581583 | 4037269 | 3357878 | 668558 | 374807 |
| | Účinnost (%) | 90,87 | 96,33 | 87,36 | 95,86 | 68,94 | 89,26 | 64,00 | 77,68 | 84,94 |
| Dichlormethan | Bez tamponu | 4249128 | 6431390 | 4897745 | 5285339 | 1827326 | 5750666 | 4291421 | 840917 | 375567 |
| | S tamponem | 4234954 | 6368271 | 4865281 | 5252392 | 1816758 | 5734649 | 4286762 | 836258 | 367783 |
| | Účinnost (%) | 99,67 | 99,02 | 99,34 | 99,38 | 99,42 | 99,72 | 99,89 | 99,45 | 97,93 |
| Methanol | Bez tamponu | 2714339 | 3697624 | 3218337 | 3197047 | 1725781 | 4930752 | 2919994 | 640148 | 360424 |
| | S tamponem | 2465219 | 3427521 | 3119439 | 3152485 | 1350859 | 4228984 | 2611839 | 631604 | 290280 |
| | Účinnost (%) | 90,82 | 92,70 | 96,93 | 98,61 | 78,28 | 85,77 | 89,45 | 98,67 | 80,54 |

