

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Katedra analytické chemie

**Extrakční metody přípravy vzorků pro analýzu
komplexních matric**

Ing. Jakub Šulc

Disertační práce

2021

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology
Department of Analytical Chemistry

**Extraction methods for the preparation of samples for
the analysis of complex matrices**

Ing. Jakub Šulc

Dissertation Thesis

2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Extrakční metody přípravy vzorků pro analýzu komplexních matic jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 22. 10. 2021

Jakub Šulc

Poděkování

V první řadě bych rád poděkoval své vedoucí práce doc. Ing. Petře Bajerové, Ph.D. a Ing. Tomáši Bajerovi, Ph.D. za jejich ochotnou pomoc, srdečnou podporu a přátelský přístup. Dále děkuji své rodině za přísun potravy, shovívavost a pomoc v krizových situacích. V neposlední řadě patří můj dík mým přátelům a kolegům za přísun dobré energie, a hlavně za neustálou motivaci a tolik potřebné naslouchání.

Obsah

Souhrn	8
Summary	9
Cíle práce.....	10
1 Úvod	11
2 Matrice.....	12
2.1 Dřevo	12
2.1.1 Listnaté versus jehličnaté dřeviny	12
2.1.2 Jádro versus běl	13
2.1.3 Chemické složení dřeva.....	14
2.2 Odpadní vody	15
2.2.1 Domácí a městské odpadní vody	16
2.2.2 Průmyslové odpadní vody	17
2.2.3 Zemědělské odpadní vody	17
3 Analyty	18
3.1 Těkavé organické látky.....	18
3.1.1 Biogenní těkavé organické látky	19
3.1.2 Analýza VOC	20
3.2 Mikropolutanty	22
3.2.1 Parabeny	23
3.2.2 UV filtry	23
3.2.3 Triclosan	24
3.2.4 Analýza mikropolutantů	24
4 Příprava vzorku k analýze	25
4.1 Extrakce kapalnou fází	25
4.1.1 Běžná extrakce kapalnou fází	25
4.1.2 Vodné dvoufázové systémy.....	25

4.1.3	Mikroextrakce jednou kapkou	26
4.1.4	Mikroextrakce kapalnou fází pomocí dutého vlákna	27
4.1.5	Disperzní mikroextrakce kapalnou fází	27
4.2	Extrakce tuhou fází	28
4.2.1	Konvenční extrakce tuhou fází	28
4.2.2	Modifikovaná extrakce tuhou fází	29
4.2.3	Mikroextrakce tuhou fází	30
4.2.4	Sorpční extrakce míchadlem	31
4.3	Moderní materiály	32
4.3.1	Iontové kapaliny	32
4.3.2	Hluboce eutektická rozpouštědla	32
4.3.3	Moderní uhlíkové materiály	33
4.3.4	Metalo-organické materiály	33
5	Praktická část	35
5.1	Charakterizace profilu těkavých látek ve vzorcích dřeva pomocí mikroextrakce tuhou fází	35
5.1.1	Statistické vyhodnocení designu experimentu	35
5.1.2	Analýza reálných vzorků	36
5.2	Využití metod HS-SPME a OPLS pro rozlišení původu vzorků modřínového dřeva .	37
5.2.1	Výběr vhodného SPME vlákna	37
5.2.2	Parametry optimalizace HS-SPME	38
5.2.3	Statistické vyhodnocení aromaprofilů pomocí OPLS	39
5.3	Iontové kapaliny v kompozitních materiálech a jejich role v přípravě vzorku	43
5.4	Využití ABS pro extrakci a prekoncentraci PCP ze vzorků odpadních vod	46
5.4.1	Výběr složení ABS	47
5.4.2	Spojení ABS s HPLC-DAD	47
5.4.3	Optimalizace mikroextrakce pomocí ABS	48

5.4.4	Analytická výkonnost ABS-HPLC-DAD metody založené na ChCl	50
5.4.5	Analýza vzorků odpadních vod	51
6	Závěr	53
7	Literatura	54
8	Seznam použitých zkratk	58
9	Přílohy	60

Souhrn

Disertační práce je formálně rozdělena do dvou částí. První část je věnována teoretickým základům, kde jsou popsány charakteristiky studovaných matric a důvody pro jejich analýzu. Dále je pozornost věnována přítomným analytům v uvedených maticích, popisu vlastností dané skupiny analytů a způsobům jejich běžné analýzy. Následně jsou uvedeny klasicky používané a moderní způsoby přípravy vzorku, především extrakční techniky na bázi kapalně a tuhé fáze

Druhá část je věnována popisu jednotlivých prací publikovaných během doktorského studia. Konkrétně se jedná o identifikaci těkavých organických látek v několika druzích dřev a využití profilu těkavých organických látek pro statistickou analýzu s cílem rozlišení původu modřínového dřeva. Následně jsou shrnuty poznatky ze souhrnného článku týkajícího se významu a funkce iontových kapalin v kompozitních materiálech. Jako poslední je popsáno využití vodných dvoufázových systému pro extrakci a zakoncentrování kontaminantů v odpadních vodách.

Summary

The dissertation thesis is formally divided in two parts. The first part is devoted to the theoretical foundation. When the characteristics of the studied matrices and the reasons for their analysis are first described. Next, attention is paid to the analytes present in these matrices, a description of the properties of the given group of analytes and methods of their common analysis. Subsequently, the classically used and modern methods of sample preparation, mainly liquid-phase and solid-phase extraction techniques, are presented.

The second part is devoted to the description of individual papers published during the doctoral program. Specifically, the identification of volatile organic compounds in several wood species and the use of their profile for statistical analysis to distinguish the origin of larch wood. Subsequently, the findings of a review on the importance and function of ionic liquids in composite materials are summarized. Last, the use of aqueous two-phase systems for extraction and concentration of contaminants in wastewater is described.

Cíle práce

- Identifikovat jednotlivé sloučeniny v profilu těkavých látek z různých vzorků dřev získaných pomocí mikroextrakce tuhou fází a spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.
- Použít profily těkavých látek získaných pomocí HS-SPME-GC jako „fingerprint“ pro rozlišení původu modřínového dřeva bez potřeby předchozí identifikace jednotlivých látek.
- Poskytnout informace o roli a přínosu iontových kapalin v kompozitních materiálech; charakterizovat jednotlivé skupiny kompozitních materiálů a shrnout jejich zastoupení.
- Optimalizovat mikroextrakční techniku založenou na vodném dvoufázovém systému a aplikovat ji při stanovení polutantů (látek produktů denní potřeby) v odpadních vodách pomocí kapalinové chromatografie.

1 Úvod

Analytická chemie prošla od poloviny minulého století dramatickou změnou, kdy byly klasické analytické metody postupně nahrazovány metodami instrumentálními. Došlo k výraznému snížení spotřeby chemikálií a vylepšení citlivosti. Navzdory tomuto pokroku některé problémy setrvávají neměnné, jako např. potřeba dosáhnout stále citlivějších metod či stanovení vybraných analytů v komplexních maticích [1]. Díky tomu zůstává příprava vzorku, jež zahrnuje izolování cílových analytů, zakoncentrování za účelem snížení limitů detekce a kvantifikace, a odstranění interferujících sloučenin, nezbytnou součástí analytických metod [2].

Vývoj metod přípravy vzorku je ovlivněn požadavky zelené analytické chemie, jež představují používání méně toxických a biologicky rozložitelných látek, snižování použití chemikálií, spotřeby energie, vzniku odpadů, a eliminování možných příčin ohrožení člověka pracujícího v laboratoři [3]. Dále se po těchto technikách požaduje, aby byly jednoduché, levné a rychlé, aby poskytovaly přijatelnou selektivitu a výtěžnost. To vede k potřebě miniaturizace a automatizace známých extrakčních technik. Většinu uvedených požadavků splňuje extrakční technika s názvem mikroextrakce tuhou fází a s postupem času jen získává na popularitě [4]. Dalším klíčovým krokem je objevování a detailnější studium moderních materiálů, mezi které jsou řazeny například iontové kapaliny. Iontové kapaliny neustále získávají na své popularitě, slibují nízkou toxicitu, vysokou účinnost a možnost měnit selektivitu [5].

2 Matrice

Během disertační práce byly v rámci experimentů analyzovány zejména vzorky dřeva a odpadních vod. Proto v textu budou tyto matrice detailněji popsány.

2.1 Dřevo

První jasné důkazy o použití dřeva pocházejí z lokalit starých 400 tisíc let [6]. Dřevo použité pro pevné produkty, vlákna a chemikálie v dnešní ekonomice stále zůstává (vztaženo na hmotnost) největší vstupní komoditou, mimo drceného kamene, písku a šterku [7]. Celková spotřeba kulatiny (tzn. součet palivového dřeva, dřevěného uhlí a průmyslově užitého dřeva) byla v roce 2016 odhadována na 3 736 977 000 m³ [8]. Pro představu, dobře vzrostlý jehličnan obsahuje v dospělosti mezi 1-2 m³ dřeva [9].

Dřevo je materiál recyklovatelný, obnovitelný a biologicky odbouratelný. To jsou charakteristiky, které jsou ve 21. století zoufale vyhledávané ve snaze udobřit si životní prostředí. Další kriticky důležitá vlastnost je, že rostoucí strom zachytává ze vzduchu velké množství oxidu uhličitého, který je považován za hlavního představitele skleníkových plynů [9].

2.1.1 Listnaté versus jehličnaté dřeviny

Listnaté dřeviny spadají hlavně do třídy krytosemenných rostlin, zatímco jehličnaté dřeviny patří do třídy nahosemenných rostlin. Oba druhy dřevin jsou široce rozšířeny po celé planetě, od tropických, až po arktické oblasti. Dřevo těchto druhů rostoucích od oblastí mírného podnebí po arktické je charakterizováno zřetelnými letokruhy, ve kterých je možné nalézt některé anatomické odlišnosti. U jehličnanů jsou hlavním typem buněk (cca 90 % objemu dřeva) tracheidy (cévice). Jejich jarní dřevo (tj. jarní přírůstek, obvykle světlejší část letokruhu) bývá snadno odlišitelné od letního dřeva (tj. letní přírůstek, tmavší část letokruhu), které má menší tloušťku, bývá tmavší a buňky mají silnější buněčnou stěnu. Tyto anatomické rozdíly jsou patrné ve vyšší hustotě letního dřeva ve srovnání s jarním dřevem. U jehličnanů rostoucích v tropických a teplých oblastech není možné jednotlivé letokruhy identifikovat, z důvodu splývající nevýrazné hranice mezi jarním a letním dřevem [10]. Během nepříznivého období podzimu a zimy dřevo neroste [11].

Stejně tak jako jehličnany jsou i listnaté dřeviny rozšířeny od tropických po arktické regiony. Jedná se většinou o opadavé dřeviny s výjimkou tropických a subtropických oblastí, kde zůstávají převážně zelené, a u kterých je opět problém rozeznat jednotlivé letokruhy. Odlišnost listnatých dřevin je patrná především v makroskopické struktuře znázorněné distribucí a počtem rozdílných buněčných druhů jako jsou cévy (tracheje), parenchym (druh rostlinného pletiva) a vláken sklerenchymu. Právě ta mohou tvořit v některých případech pouze 25 % objemu dřeva, pro listnaté dřeviny tomu může být až 50-70 %. Na rozdíl od jehličnanů, kde tracheidy tvoří hlavní typ buněk, je u listnatých dřevin více druhů buněk [10].

Některé opadavé listnáče, jako jsou dub či jilm, mají velmi velké cévy soustředěné na začátku letokruhu, tedy blíže ke středu. Takové dřevo se označuje jako „dřevina s kruhově pórovitou stavbou“, zatímco ostatní druhy listnatých dřevin a téměř všechny stále zelené jehličnany, které mají tracheje (cévy) a tracheidy (cévice) rovnoměrně rozprostřené po celém letokruhu se označují, jako „dřeviny s roztroušeně pórovitou stavbou“. Tato charakterizace platí jen pro některé krajní případy a je mnoho druhů, které mají strukturu pórů ležící uprostřed obou charakteristik. Tato struktura ovlivňuje fyzikální vlastnosti dřeva, jako je hustota, ale také vizuální vlastnosti dřeva a zejména struktury letokruhů po nařezání [10].

2.1.2 Jádru versus běl

Na příčném (transversálním, čelním) řezu stromem u středu kmene je patrná tmavě zbarvená zóna označovaná jako jádro, která je obklopena světlejší zónou zvanou běl. Někdy barevný rozdíl chybí, ale jádro tam stále je. Některé stromy vytváří falešné jádro a některé stromy jádro nevytváří vůbec, např. některé javory, olše, topoly atd. Bělové dřevo, alespoň jeho vnější část, přenáší vodu s minerálními živinami z kořenů do dalších částí stromu. Navíc má běl živé parenchymatické tkáně, které hrají důležité fyziologické role, jako například uložení škrobu či tuku. Z tohoto pohledu je běl považován za aktivní tkáň dřeva [10].

Naproti tomu jádro je mrtvé dřevo. Jak strom dospívá, všechny parenchymatické buňky běle umřou a ostatní typy buněk, jako tracheidy nebo vlákna sklerenchymu se zacpou pigmentem složeného z polyfenolů a flavanoidů [10]. Hraniční otvory u nahosemenných dřevin jsou uzavřeny membránou na obou stranách hranice, zatímco u krytosemenných dřevin jsou zablokovány výrůstky na buňkách parenchymu. Proto se jádro nepodílí na transportu vody a nadále neplní fyziologické funkce [12]. Nicméně odolnost tohoto dřeva proti hnilobě, hmyzu a rozkladu je vylepšena vlivem vyššího obsahu přítomných uložených sloučenin [10].

2.1.3 Chemické složení dřeva

Majoritní látkou v živém stromě je voda, ale v suchém dřevě se všechny buněčné stěny skládají z polymerů na bázi glukózy (65-75 %), které jsou kombinovány s ligninem (18-35 %). Dřevo lze dále definovat jako tříložkový biopolymerní kompozit složený ze vzájemně propojené sítě řetězců celulózy, hemicelulózy, ligninu, doprovázený malým množstvím škrobu, pektinu, minoritního množství extraktiv (doplňkové složky extrahovatelné různými rozpouštědly) a anorganických látek [8]. Elementární složení suchého dřeva je pak přibližně 50 % uhlíku, 44 % kyslíku, 6 % vodíku a stopová množství dalších prvků [9].

Extraktiva je skupina látek, které mohou být ze dřeva extrahovány rozpouštědly. V některých případech jsou klasifikována podle použitého rozpouštědla (např. rozpustné ve vodě, rozpustné v etheru). Na rozdíl od složení holocelulózy a ligninu, které se napříč druhy liší jen minimálně, se složení a obsah jednotlivých extraktiv markantně liší druh od druhu. Byly identifikovány stovky extraktiv, v některých případech jsou jejich úloha a význam známy, v jiných případech není plně známo, proč jsou ve dřevě přítomny [13]. Některá extraktiva jsou přítomna jako prekurzory pro další sloučeniny, některá vznikají jako odpověď na zranění a jiná se chovají jako obranný mechanismus [9]. Tyto specificky biologicky aktivní látky bývají vyhledávány po celá století jako zdroj léčivých látek. Extraktiva nejvíce ovlivňují barvu dřeva a jeho vůni, dále ovlivňují vlastnosti dřeva při jeho schnutí, lepení, jeho hygroskopicitu a také akustické vlastnosti [10].

Extraktiva se především skládají z tuků, mastných kyselin, mastných alkoholů, fenolů, terpenů, terpenoidů, steroidů, kalafuny, vosků a stále ještě mnoha dalších organických látek. Zmíněné látky se vyskytují jako monomery, dimery i jako polymery. Obecně můžeme říct, že jehličnany obsahují větší množství extraktiv než dřeviny listnaté. V obou druzích dřevin jsou extraktiva nejvíce zastoupena v jádře a jsou zodpovědné za barvu, vůni (především monoterpeny a seskviterpeny) a odolnost dřeva. Různé kvalitativní složení extraktiv druh od druhu je základem chemotaxonomie (tj. taxonomie založená na obsahu chemických látek) [9].

2.2 Odpadní vody

Tento termín má několik různých definicí. Mnoho dokumentů vydaných pod záštitou Organizace spojených národů (OSN) [14-16] používá širokou a všeobecnou definici z práce Raschid-Sally a Jayakody (2008) [17]. Podle ní můžeme považovat odpadní vodu za kombinaci jednoho či více z následujících:

- domácí odpadní voda, jež se skládá z černé vody (výkaly, moč a fekální kaly) a šedé vody (použitá voda z praní a koupání),
- voda z komerčních zařízení a institucí, včetně nemocnic,
- průmyslové odpadní vody, dešťové vody a městské odtoky,
- akvakulturní, zemědělské a zahradnické odtoky.

Jedná se o kritickou součást koloběhu vody, s níž je třeba nakládat napříč celým vodohospodářským cyklem, který si můžeme představit následovně: vstup čerstvé vody, její úprava, distribuce, použití, sběr, následná úprava, opětovné použití, dokud nedojde ke konečnému návratu do životního prostředí. Nicméně, právě konečné hospodaření bývá často přehlíženo. Obecně je odpadním vodám a hospodaření s nimi věnováno málo pozornosti v porovnání s problematikou nedostatku vody. A to i přesto, že jsou spolu neodmyslitelně spojeny. V průměru se dá říct, že země s vysokým HDP zpracují okolo 70 % jimi vyprodukovaných městských a průmyslových odpadních vod. Takové země jsou zpravidla motivovány udržet kvalitu životního prostředí a zároveň poskytovat alternativní zdroje pitné vody ve snaze zmírnit její nedostatek. Toto procento citelně klesá na 38 % u zemí s vyšším středním příjmem a 28 % pro země s nižším středním příjmem. V případě zemí s nízkým příjmem je zpracováno pouhých 8 % odpadních vod. To je dáno především chybějící infrastrukturou a technickou kapacitou i nedostatečným financováním. Tyto odhady podporují často citovaný odhad, který říká, že celosvětově je okolo 80 % všech odpadních vod vypouštěno do životního prostředí bez jakéhokoliv zpracování. Opomíjení odpadních vod může mít za následek velmi citelné dopady na udržitelnost dodávek vody, lidské zdraví, ekonomiku a životní prostředí [16].

Odpadní vody se skládají zhruba z 99 % vody a z 1 % suspendovaných, koloidních a rozpuštěných tuhých látek. Pokud k tomu přičteme průměrnou specifickou denní spotřebu vody čítající zhruba 150 l na 1 obyvatele na 1 den [18], zjistíme, že proces čištění odpadních vod představuje nesmírnou technologickou výzvu, chceme-li po čistírně vod upravenou odpadní

vodu s úrovní kontaminace jednotlivých látek nižší než $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a v mnoha případech nižší než $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Což při počátečním znečištění $500 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a více představuje úctyhodný požadavek na nejméně 99,6% účinnost úpravy odpadních vod [19].

V současné době je v Evropské Unii na trhu dostupných okolo 3000 aktivních farmaceutických látek jako jsou analgetika, antiinflamatorika, antikoncepce, neuroaktivní látky, beta-blokátory, lipidové regulátory a mnoho dalších [20]. Některé látky, především farmaceutika, byly detekovány v široké škále vzorků přírodních vod v koncentracích klesajících až do řádů $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ [21]. Jejich koncentrace sice není vysoká, ale mnoho z nich se může v životním prostředí šířit, a skrze potravinový řetězec koncentrovat, což může vést k otravám zvířat i lidí [22]. Ačkoliv je u těchto látek každý aspekt jejich farmaceutické účinnosti a bezpečnosti důkladně zkoumán, celkový rozsah a dopad jejich přítomnosti v životním prostředí bývá naopak nedostatečně prostudován. Mnoho z nich zůstává neregulováno nebo v současné době prochází procesem regulace [23]. Rapidní rozvoj instrumentální analytické chemie v posledních několika desetiletích, jmenovitě např. extrakce tuhou fází, spojení hmotnostní spektrometrie s plynovou (GC-MS) anebo kapalinovou chromatografií (LC-MS), umožnil vědcům separovat a identifikovat látky v koncentracích v řádech $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ i nižších. Tím také došlo k odhalení široké škály dosud nedetekovaných znečišťujících látek, které jsou souhrnně označovány jako mikropolutanty nebo emergentní polutanty [24].

2.2.1 Domácí a městské odpadní vody

Jejich složení je velice proměnné, což reflektuje širokou škálu kontaminantů pocházejících z různých domácích, komerčních a institučních zdrojů. U domácích odpadních vod se obecně nepředpokládá výskyt nebezpečných sloučenin, nicméně je zde rostoucí obava z mikropolutantů zahrnující používaná léčiva, která i v nízkých koncentracích mohou mít dlouhodobé důsledky [16].

Domácí odpadní vody jsou zpravidla zpracovávány jedním ze dvou způsobů. Prvním je takzvaný „on-site“, kdy jsou odpadní vody řešeny na místě vzniku. Jedná se zpravidla o záchyt a akumulaci ve formě jímky nebo septiku. To vyžaduje pravidelné vyprazdňování, kdy je odpad transportován ke zpracování a/nebo zlikvidování. Nicméně, vypouštění nezpracovaných odpadních vod do životního prostředí z těchto zdrojů je stále běžnou praxí. Druhým způsobem je tzv. „off-site“, tedy mimo místo. Odpadní vody jsou transportovány pomocí kanalizačního systému od místa zpracování, jež může v lepším případě představovat čistička odpadních vod (ČOV), v horším případě pak prostá výpusť [15].

2.2.2 Průmyslové odpadní vody

Toxicita, mobilita a množství průmyslových polutantů potenciálně představuje pro vodní zdroje, lidské zdraví a životní prostředí významnější riziko než samotný objem odpadních vod. Malé a střední podniky často vypouštějí své odpadní vody do městského systému nebo přímo do životního prostředí. Mnohdy se jedná o velmi znečištěné vody obsahující kyseliny a těžké kovy. Nejenom, že takovéto znečištění způsobuje výrazné poškození životního prostředí obzvláště citlivým ekosystémům, ale velmi často je v přímém kontaktu s lidskou i zvířecí populací, kde způsobuje poškození zdraví. Větší průmysl, vypouštějící odpadní vody do městského systému nebo povrchových vod, musí splňovat příslušné regulace pod hrozbou finančních sankcí. To většinou znamená, že odpadní vody před vypuštěním prochází v podniku vlastní ČOV. Samozřejmě jsou případy, kdy je pro podnik finančně přijatelnější platit pokuty, než investovat do zpracování odpadních vod [15, 16].

2.2.3 Zemědělské odpadní vody

Za poslední půlstoletí se plocha vybavená pro zavlažování více než zdvojnásobila, celkový počet hospodářských zvířat se více než ztrojnásobil a vnitrozemská akvakultura se dokonce rozrostla víc než dvacetinásobně. Ke znečištění vlivem zemědělské činnosti dochází zpravidla tehdy, pokud jsou hnojiva a jiná zemědělská chemie použity ve větší míře, než je potřeba, nebo když jsou vyplaveny pryč. Stejným způsobem vzniká znečištění z hospodářských zvířat a akvakulturní činnosti. Ze zemědělské činnosti pochází široká paleta polutantů, mezi něž patří organická hmota, různé patogeny, kovy a mikropolutanty. Za posledních 20 let se zemědělské polutanty rozšířily o antibiotika, vakcíny, látky podporující růst a hormony, jejichž původ může být u hospodářských zvířat a akvakulturních farem [16].

3 Analyty

3.1 Těkavé organické látky

Těkavé organické látky (VOC) jsou všudypřítomné a některé skupiny jsou považovány za riziko pro zdraví i životní prostředí (např. VOC z paliv, rozpouštědel atd.) Můžeme je nalézt v podstatě ve všech přírodních i syntetických materiálech. Použití těchto všudypřítomných látek je nevyčísitelné, zmiňme jen pohonné hmoty, rozpouštědla, biocidy, vůně či vonné součásti. Při pokojové teplotě jsou většinou ve formě výparů nebo kapalin, ale některé VOC existují i v pevném stavu, například naftalen a *p*-dichlorbenzen používané jako kuličky proti molům nebo osvěžovače vzduchu [25].

Pro většinu VOC je vzduch hlavním způsobem expozice. Ve speciálních případech může dojít k expozici z pitné vody. Pro některé přírodní VOC může být expozice i ve formě potravin a nápojů, například limonen jakožto přírodní součást citrusů, ale také jako syntetické aditivum v limonádách a čajích. Expozice skrz zeminu může hypoteticky být v případě domů postavených na kontaminovaných skládkách. Existují dvě hlavní zdravotní rizika: rakovina a akutní dráždivost (též nazývána jako syndrom nemocných budov), kdy druhé zmíněné riziko může mít stejně velký, ne-li větší ekonomický efekt jako rakovina [25].

Působí-li těkavé organické sloučeniny na životní prostředí a živé organismy, může být porušena citlivá rovnováha ekosystémů nebo mohou způsobovat nepříznivé účinky na zdraví. Toxikologický výzkum odhalil, že mnoho VOC má reversibilní i ireversibilní vliv na lidský organismus, od akutního podráždění očí, nosu, krku, alergické reakce nebo poškození vnitřních orgánů, až po dlouhodobý vliv, jako například karcinogenita. Ekotoxikologický výzkum ukazuje vliv VOC na životní prostředí v rozsahu od změn populace zemských a vodních ekosystémů po vyhynutí náchylnějších druhů. Všechny tyto efekty mohou být způsobené těkavými organickými látkami ať už přímo či nepřímo. Výše uvedené vědecké poznatky zvyšují povědomí veřejnosti a regulačních orgánů, a přesvědčují je tak k přijmutí adekvátních a přísnějších opatření ve vztahu k VOC [25].

3.1.1 Biogenní těkavé organické látky

Stejně všudypřítomné jako obecné VOC, jsou i biogenní VOC, které se do ovzduší dostávají pouze z přírodních zdrojů. Přímo i nepřímo ovlivňují životy většiny rostlin, hmyzu, a dokonce i lidí mnoha různými způsoby. Jakožto přenositelné vzduchem plní biogenní VOC nespočet úloh, jako například přenos informací mezi hmyzem a rostlinami, při páření hmyzu, nebo v důsledku jejich, pro člověka příjemné, vůně či chutě slouží jako vonné esence a příchutě. Variabilita struktury těchto látek, která je obecně založena na uhlovodíkovém skeletu s jedním či více přítomnými heteroatomy jako je kyslík, dusík nebo síra, je velice rozmanitá a početná. Nicméně tyto látky jsou vždy dokonale přizpůsobeny pro svou specifickou roli, kterou v přírodě mají. Biogenní VOC jsou nezvykle vysoce selektivní, což je dáno především jejich molekulovou strukturou (a prostorovým uspořádáním různých funkčních skupin), a obvykle to znamená velmi nízký detekční práh dané sloučeniny pro cílový druh (hmyz či rostlinu). Z toho vyplývá, že receptory tohoto druhu mohou specifickou molekulu ve vzduchu selektivně detekovat i ve velmi nízkých koncentracích obvykle vyjádřených v $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ vzduchu, což mnohdy představuje jen několik molekul. V atmosféře můžeme najít mnoho různých biogenních VOC emitovaných rostlinami, zvířaty či mikroorganismy jako například alkany, alkeny, alkoholy, aldehydy, ethery, estery, karboxylové kyseliny a různé typy izoprenoidů. Právě izoprenoidy představují majoritní část biogenních VOC, ať už jsou uvolňovány do ovzduší (hemi-, mono- a seskviterpeny), nebo jsou hromaděny uvnitř (diterpeny a vyšší) [26].

Izoprenoidy představují skupinu látek, které jsou složeny z jedné či více izoprenových jednotek (C_5H_8). Jedná se o největší skupinu látek sekundárních rostlinných metabolitů, které se vyskytují v obrovském počtu rostlin včetně stromů. Skládají se z terpenoidů a steroidů [10]. Ve dřevě jsou nejvíce zastoupeny mono-, seskvi-, di-, tri-, a polyterpenoidy. Dnešní název terpeny označují skupinu terpenických uhlovodíků, zatímco jejich oxidované deriváty s hydroxylovou, karbonylovou či karboxylovou funkční skupinou jsou označovány jako terpenoidy. Pro zjednodušení bylo navrženo nazývat obě skupiny souhrnně terpenoidy [12].

Monoterpenoidy (C_{10}) se nejvíce vyskytují v pryskyřici jehličnanů v obou formách, jak ve formě uhlovodíků, nebo ve formě jejich oxidovaných derivátů. Dělí se na acyklické a cyklické. Nejznámější představitelé této skupiny vyskytující se ve dřevě jsou α - a β -pinen, bornyl acetát, 3-karen a kamfen [10, 12].

Seskviterpenoidy (C₁₅) zahrnují více než 2500 identifikovaných sloučenin a jedná se tak o nejpočetnější skupinu terpenoidů. Nicméně se většinou vyskytují pouze v malých množstvích a nejsou tak komerčně důležité. Jmenovitě sem patří α -muurolen, δ -kadinen, longifolen či juniperol [10, 12].

Diterpenoidy (C₂₀) tvoří majoritní složku takzvaného oleoresinu (tzn. polotuhý extrakt rozpuštěné pryskyřice v esenciálním oleji po odpaření rozpouštědla). Za zmínku stojí geranyllinalool (norský smrk), β -epimanol a *cis*-abienol (čeleď borovicovitá), manoyloxid či cembren (smrk) [10, 12].

3.1.2 Analýza VOC

Proces analýzy těkavých organických látek se skládá z několika po sobě jdoucích kroků: separace, identifikace, kvantifikace jednotlivých látek (pokud je zapotřebí) a případné statistické zpracování získaných dat. Tato skupina látek je velmi komplexní a obecně bývá charakterizována těkavými látkami se střední až nízkou polaritou s podobnou strukturou a fyziologickými vlastnostmi (např. monoterpenoidy). Tyto vlastnosti dělají z plynové chromatografie (GC) ideální nástroj pro jejich analýzu. Pro rutinní analýzy nepolárních a středně polárních VOC jsou nejvíce oblíbené kolony s nepolární stacionární fází, která je založená na bázi methyl polysiloxanu (např. DB-1, HP-1, OV-1, OV-101, SE-30 atd.), nebo na bázi methyl polysiloxanu s 5% přídavkem methyl-fenyl polysiloxanu (DB-5, HP-5, SE-52, atd.). Pro polární látky se používají především kolony se stacionární fází založenou na bázi polyethylenglykolu (PEG-20M, DB-Wax, CW-20M, atd.). Kolony se středně polární stacionární fází, která je založená na polysiloxanu s cca 14% přídavkem kyanopropyl-fenyl polysiloxanu (OV-17, OV-1701, DB-1701, atd.), také získávají na oblíbenosti díky svým separačním vlastnostem, které se nacházejí mezi polárními a nepolárními stacionárními fázemi [26].

Identifikace látek je obvykle provedena pomocí spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie, které velmi výhodně kombinuje hmotnostní spektra a chromatografická data. Ty jsou charakterizována pomocí Kovátových [27] nebo van den Doolových retenčních indexů [28]. Porovnáním spektra studované látky se spektry z knihovny spekter se látka identifikuje a pomocí porovnání retenčního indexu studované látky s retenčním indexem navrhované látky již dříve publikovaným potvrdíme identitu látky. Jejich vysoká

spolehlivost, stěžejní příspěvek hmotnostních spekter pro spolehlivou identifikaci a stále přijatelnější cena GC-MS přístrojů postupně vytlačují univerzální detektory jako plamenově ionizační detektor (FID) či teplotně vodivostní detektor (TCD) [26].

3.2 Mikropolutanty

Jak již bylo řečeno dříve, jedná se zpravidla o neregulovanou, persistentní a všudypřítomnou skupinu látek, jež se v životním prostředí vyskytuje v nízkých koncentracích. Tyto potenciálně škodlivé látky byly v životním prostředí objeveny teprve nedávno a jejich dopad na ekologii a zdraví bývá zpravidla nedostatečně prostudován [24]. Přítomnost těchto látek v životním prostředí pro něj nepředstavuje bezprostřední riziko samo o sobě, jako spíše jejich schopnost vzájemně ovlivňovat své toxické účinky [29]. Mimo látky s hydrofilním charakterem sem patří i látky lipofilního charakteru, navíc může docházet k jejich metabolickým rozpadům a přeměnám, což jen dále komplikuje určování míry jejich akumulace a jejich studium [30].

Do životního prostředí se dostávají skrze bezpočet cest, jmenovitě v neupravených i upravených městských i průmyslových odpadních vodách, z neupravených průsaků skládek či v povrchových odtocích z městských a zemědělských oblastí. ČOV, ačkoliv se nejedná o zdroj jako takový, patří mezi jednu z cest, kudy se mikropolutanty dostávají do životního prostředí. Jelikož se mikropolutanty mohou vyskytovat na vstupu i v již upravených odpadních vodách v koncentracích od $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ do $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, skrz ČOV procházejí a jsou do životního prostředí kontinuálně vypouštěny. Tuto skupinu můžeme rozčlenit na farmaceuticky aktivní látky, látky produktů denní potřeby, umělá sladidla a endokrinní disruptory. Jejich výskyt v odpadních vodách bude nevyhnutelně představovat potenciální nepříznivý účinek na zhoršující se stav životního prostředí [31].

Skupina látek produktů denní potřeby (PCP) je charakterizována jako skupina organických látek, jež jsou součástí široké palety různých produktů běžně užívaných v lidském životě, jako například v zubních pastách, mýdlech, šamponech, kosmetice, přípravcích na opalování nebo také některých potravinách. Po použití mohou být vstřebány do těla a vyloučeny nebo smyty po jejich aplikaci [32]. Tyto látky a jejich metabolity jsou následně částečně eliminovány v čistírnách odpadních vod, část je zachycena v kalech a část prochází do volné přírody [33]. Mnoho z těchto zmíněných sloučenin je celosvětově používáno již po desetiletí, ale v mnoha případech stále chybí spolehlivá data, byť i jen o jejich produkovaném množství. Informace o výskytu pocházejí většinou z nesouhrnné administrativní či vědecké činnosti s velkými rozdíly v jejich prostorovém a časovém pokrytí [30].

3.2.1 Parabeny

Parabeny (alkyl estery kyseliny *p*-hydroxybenzoové) jsou hlavní a nejpoužívanější skupinou syntetických konzervantů. Jsou používány pro svou vysokou stabilitu a schopnost bránit růstu plísní a bakterií, oxidaci a také blokovat přirozené dozrávání ovoce a zeleniny [34]. Jsou bezbarvé, bez zápachu a nezpůsobují zbarvení. Jejich antibakteriální a fungicidní účinnost spolu s nízkou výrobní cenou, jejich údajnou nízkou toxicitou a chybějící použitelnou alternativou stojí za jejich všudypřítomným použitím. Navzdory jejich objemnému celosvětovému užívání roste počet studií o jejich škodlivosti [30]. Mohou být rychle metabolizovány v játrech a trávicím traktu na alkyl protokatechuáty, které dále přechází na kyselinu 3,4-dihydroxybenzoovou a kyselinu *p*-hydroxybenzoovou. Parabeny a jejich metabolity byly detekovány v různých médiích životního prostředí, jako například v pitné vodě, oceánech, povrchové vodě, sedimentech, prachu a zemině, ale také v lidech samotných, a to konkrétně ve vzorcích krevního séra i plazmy, moči, mateřského mléka a placenty [34].

3.2.2 UV filtry

UV filtry se staly velmi populárními poté, co prokázaly svou ochrannou roli proti tzv. fotostárnutí, fotokarcinogenezi a fotoimunosupresi, tedy negativním zdravotním projevům vzniklým vlivem slunečního UV záření. Tyto látky nejsou pouze rozsáhle používány jako PCP, ale také jsou běžně používány k ochraně proti fotodegradaci v široké škále průmyslových produktů, jako může být textil, barvy nebo plasty. Tyto látky vstupují do životního prostředí přímo jako výsledek rekreačních aktivit, kdy jsou smyty z kůže, nebo nepřímo skrze městské a průmyslové odpadní vody, například po osprchování či vyprání prádla. Vzhledem k vysokému lipofilnímu charakteru a špatné biodegradaci těchto látek dochází k jejich akumulaci v sedimentech a biotě. Zbytky polárnějších UV filtrů byly nalezeny ve všech typech vod včetně pitné [30]. Benzofenon-3 (BP-3, též označovaný jako oxybenzon) je běžně používaný jako UV filtr v široké paletě kosmetických produktů. Až 97 % obyvatel USA obsahuje měřitelné množství BP-3. Některé jeho metabolity vykazují vyšší toxicitu než samotný BP-3 [35]. Mezi ně patří například benzofenon-1 nebo také benzofenon-8 [36].

3.2.3 Triclosan

Triclosan byl původně vyvinut jako prostředek pro čištění, ale jeho použití se rozšířilo v mnoha prostředcích s účelem omezit či zastavit bakteriální a plísňovou aktivitu. Často se používá jako antibakteriální činidlo v široké škále produktů počínaje mýdly, zubními pastami, deodoranty, kosmetikou a konče plasty a tkaninami. Vzhledem k jeho relativně vysokým hydrofobním vlastnostem je účinnost jeho odstranění při běžné úpravě vod poměrně vysoká, stále však dochází k průchodu jistého množství do volné přírody, kde se může usazovat v sedimentech [30].

3.2.4 Analýza mikropolutantů

Široká rozmanitost chemických vlastností těchto látek spolu s nízkou koncentrací, v níž se vyskytují v životním prostředí činí, z jejich analýzy náročnou výzvu. Z instrumentálních technik jsou nejčastěji používány kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem (LC-MS/MS) a plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Jako techniky sloužící k zakoncentrování vzorků jsou používány klasické extrakční techniky (jako např. extrakce kapalnou fází či extrakce tuhou fází) pro jejich přednosti, jako jsou jednoduchost, snadná manipulovatelnost a absence komplikovaného vybavení. Kvůli svým nevýhodám (časová náročnost, vyšší cena, vyšší spotřeba organických rozpouštědel a nedostatečná selektivita) bývají klasické techniky nahrazovány mikroextrakčními technikami (budou detailně rozebrány v další kapitole) [37].

4 Příprava vzorku k analýze

Přípravou vzorku je myšlena chemická nebo fyzická úprava vzorku za účelem zlepšení účinnosti nebo jen prosté umožnění analýzy. Tento krok je nezbytný, protože bývá obvyklé, že chemická analýza není vůbec proveditelná bez předchozí úpravy vzorku. Vzorek si můžeme imaginárně rozdělit na dvě odlišné části: na část analytů a na část matrice. Analyty jsou látky, které je zájem stanovit. Matrice představuje zbytek látek ve vzorku, jejichž identifikace ani stanovení není předmětem analýzy. Přípravou vzorku k analýze se rozumí úkony jako rozpouštění vzorku, úprava či zjednodušení matrice, zakoncentrování analytů, předběžná separace analytů ze vzorku nebo chemická změna analytů. Všechny tyto operace jsou prováděny před samotnou analýzou [38].

4.1 Extrakce kapalnou fází

4.1.1 Běžná extrakce kapalnou fází

Extrakce kapalnou fází (LLE) používá přídavek daného množství extrakčního rozpouštědla ke známému objemu stanovovaného roztoku. Obě kapaliny by měly být vzájemně nemísitelné. Obvykle se při této technice používá dělicí nálevka, případně jiné vhodné laboratorní vybavení. Po dané době třepání se směs nechá v klidu, aby došlo k oddělení obou vrstev kapalin. K urychlení rozvrstvení je možné v některých případech použít centrifugaci. V případě potřeby je možné extrakci opakovat po přidavku čerstvého rozpouštědla. Dobrá separace obou vrstev, aniž by došlo ke ztrátám některé z kapalin, je důležitá pro dobré výsledky extrakce. V poslední době je z ekonomických i ekologických důvodů snaha vyvíjet metody snižující množství použitých extrakčních rozpouštědel [38].

4.1.2 Vodné dvoufázové systémy

Vodné dvoufázové systémy (ABS) objevil již v roce 1896 Martinus Willem Beijerinck smícháním vodných roztoků škrobu a želatiny [39-41], nicméně až Per-Åke Albertsson v roce 1958 nachází jejich reálné využití jako separační a předčišťovací základnu pro biologicky aktivní látky [42]. ABS je tříložkový systém, jež se skládá z vody a dvou hydrofilních komponent, které mohou být dva nekompatibilní polymery, polymer a sůl nebo dvě sole, které po rozpuštění ve vodě tvoří dvoufázový systém [40]. Nejběžnější bývá systém polymer-polymer, zpravidla polyethylenglykol a dextran nebo polymer-sůl, obvykle fosforečnan, síran

nebo citrát [43]. Voda jakožto hlavní komponenta obou fází představuje šetrné prostředí pro separaci biomolekul, neboť zde nedochází k jejich poškození vlivem organických rozpouštědel či podmínek separace, jako tomu může být v případě konvenčních metod [41].

Od roku 2003, kdy Rogers a kol. publikovali využití iontových kapalin v ABS, počet článků na dané téma výrazně vzrostl [44]. Po jejich vzoru byla použita i jiná moderní rozpouštědla, jako jsou hluboce eutektická rozpouštědla. Jejich využití v ABS nicméně představuje problém, jemuž se věnuje několik publikací, které tvrdí, že dochází k rozpadu hluboce eutektického rozpouštědla na původní komponenty a vzniku čtyřsložkového systému [45-48].

Oproti konvenčním extrakčním metodám má ABS několik výhod, mezi něž můžeme zařadit nehořlavost, nízkou až žádnou toxicitu, nízké provozní náklady a také ekologickou šetrnost [41]. Výraznou výhodou může představovat možnost úpravy selektivity umožňující separaci specifických látek. Díky těmto vlastnostem byly ABS aplikovány při separaci mnoha biomolekul, včetně bílkovin, antibiotik nebo enzymů [40].

4.1.3 Mikroextrakce jednou kapkou

Mikroextrakce jednou kapkou (SDME) snižuje poměr rozpouštědla k vodné fázi v porovnání s tradiční, výše zmíněnou, LLE. Jedná se o techniku s minimální spotřebou rozpouštědel, jednoduchou, finančně nenáročnou, rychlou a efektivní. Na druhou stranu se nejedná o totální extrakční techniku. To znamená, že jen malá frakce analytů je extrahována a zakoncentrována pro analýzu. Tato technika vyžaduje organické rozpouštědlo s vodou nemísitelné a analyty, které jsou více rozpustné v organické fázi než ve fázi vodné. SDME techniku je možné používat v módech přímého ponoření (DI-SDME) nebo v parním prostoru (HS-SDME)[49].

Cantwell a Jeannot ve své publikaci [50] představili v roce 1996 použití DI-SDME, kdy na teflonovou tyčinku byla umístěna kapka rozpouštědla. Tyčinka pak byla ponořena do míchaného vodného roztoku, aby mohla proběhnout extrakce. Nevýhodou bylo, že extrakce a nástřik probíhal ve dvou krocích. Kapka byla po extrakci odebrána mikro stříkačkou a až poté nadávkována. Nicméně, tento problém vyřešili ve své další práci [51], kde mikrostríkačku použili už od začátku jako držák kapky.

V roce 2001 představili Theis a kol. [52] první použití HS-SDME. Jedná se o velice jednoduchou metodu přípravy vzorku. Extrakce probíhá tak, že je kapička rozpouštědla

zavěšena na špičce jehly mikrostříkačky v parním prostoru vzorku, který je temperován při dané extrakční teplotě po danou dobu extrakce. Během ní je přenos hmoty v parní fázi velmi rychlý vlivem vysokých difúzních koeficientů v plynné fázi. Vysoká rychlost míchání vzorku pak zlepšuje přenos hmoty a extrakční účinnost, aniž by byla ohrožena stabilita kapky, jak tomu je u DI-SDME. Tato metoda je aplikovatelná v analýze těkavých a částečně těkavých látek [49].

4.1.4 Mikroextrakce kapalnou fází pomocí dutého vlákna

Mikroextrakce kapalnou fází pomocí dutého vlákna (HF-LPME) byla poprvé představena v práci Pedersen-Bjergaarda a Rasmussena v roce 1999 [53]. Je založená na nízkonákladových, jednoúčelových, pórovitých a dutých polypropylenových vláknech nebo pórovitých polyvinyliden difluoridových vláknech. V pórech dutého vlákna je imobilizovaná s vodou nemísitelná organická fáze. Uvnitř dutého vlákna je umístěno 2 až 30 μl akceptorové fáze a není tak v přímém kontaktu se vzorkem (donorová fáze), což umožňuje intenzivnější míchání, aniž by došlo ke ztrátě kapky rozpouštědla jako se tomu může stát u SDME. Objem vzorku může být od 50 μl do více jak 1 litru. Analyty jsou pak extrahovány skrze imobilizovanou organickou fázi do akceptorové fáze. Po extrakci je to právě akceptorová fáze, ve které jsou analyty zakoncentrovány, a která je analyzována. Akceptorová fáze může být organické rozpouštědlo s vodou nemísitelné a je přímo kompatibilní s plynovou chromatografií. Takovýto systém tvoří dvousložkový systém. Nebo to může být vodný roztok poskytující tříložkový systém, kde je pak akceptorová fáze kompatibilní s vodnými separačními systémy, jako jsou HPLC s obrácenými fázemi, nebo kapilární elektroforéza (CE). Jedná se o metodu vhodnou pro extrakci analytů z komplexních matic, jako jsou biologické a environmentální vzorky [49, 54].

4.1.5 Disperzní mikroextrakce kapalnou fází

Disperzní mikroextrakce kapalnou fází (DLLME) byla představena v roce 2006 v publikaci Rezaee a kol. [55], kde byla použita k zakoncentrování organických analytů z vodné matrice. Disperze extrakčního činidla je docílena přidáním takzvaného dispergačního roztoku. Jedná se tedy o tříložkový systém, kdy ve vodném roztoku je přidáno dispergační činidlo, které zajišťuje disperzi extrakčního činidla. Extrakce pak probíhá na základě rovnovážné distribuce cílových analytů mezi roztokem vzorku a extrakčním rozpouštědlem. Pro DLLME se používají skleněné vialky s konickým dnem. Ke známému množství vzorku se vstříkne směs dispergačního a extrakčního činidla pomocí mikro stříkačky nebo pipety.

Při míchání vznikne zakalený roztok obsahující malé kapičky dispergovaného extrakčního činidla. Díky tomu je kontaktní povrch mezi kapičkami extrakčního činidla a vzorkem velmi velký, což zajišťuje rychlý přenos analytů a ustálení rovnováhy. Poté je vialka umístěna do centrifugy, aby extrakční činidlo sedimentovalo v kónickém dně, kde je odebráno mikrostríkačkou či pipetou. DLLME je velmi jednoduchá na provedení, rychlá, levná, s minimální spotřebou rozpouštědel, poskytuje vysokou výtěžnost a vysoký obohacovací faktor, čímž je vhodná pro stopovou analýzu [49].

4.2 Extrakce tuhou fází

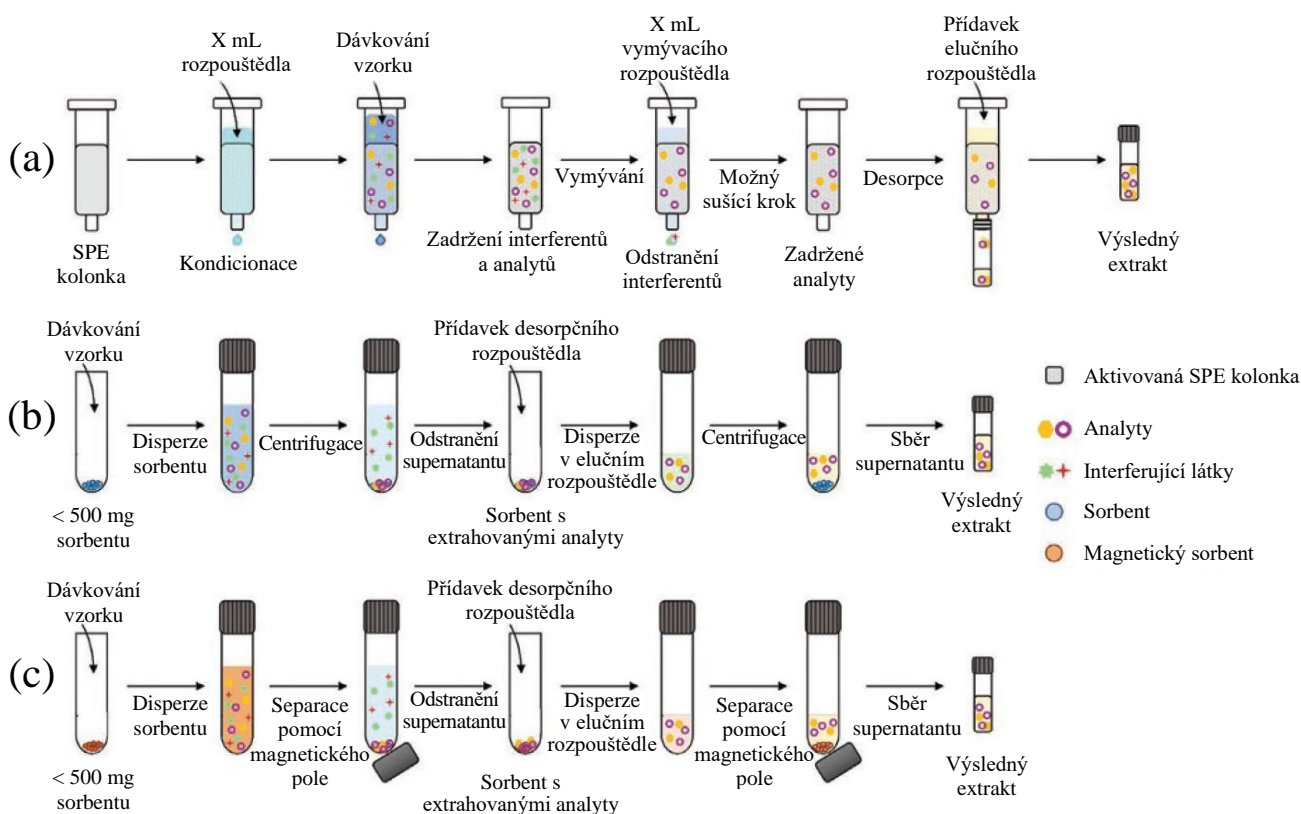
4.2.1 Konvenční extrakce tuhou fází

Extrakce tuhou fází (SPE) je velmi rozšířená technika přípravy vzorku pro chromatografické analýzy. Tato technika má několik podobností s kapalinovou chromatografií. Jeden běžný způsob použití tuhého sorbentu je jeho umístění do polypropylenové či skleněné trubičky, typicky tělo injekční stříkačky bez pístu. Sorbent je zvolen tak, aby se na něm zachytávaly požadované analyty. Tyto kolonky standardně obsahují od 50 mg do 10 g sorbentu, ale dá se jít i do větších extrémů. Sorbent je ve formě malých částic umístěn mezi dvěma propustnými disky (frity, filtrační papír či porézní polypropylen). Kapalina prochází sorbentem volně, centrifugací nebo pomocí podtlaku. Obrázek 1a zobrazuje schéma extrakčního procesu. Tato technika je výborná pro zachycení i stopových množství analytu, což umožňuje jejich chromatografickou analýzu, která by jinak nebyla možná [38]. Mimo mikroextrakčních variant se SPE ještě provádí pomocí disků či pipetovacích špiček [56].

4.2.2 Modifikovaná extrakce tuhou fází

Mezi mnohé variace na SPE patří i disperzní extrakce tuhou fází. Ta získává na popularitě od roku 2003, kdy ji uvedli Anastassiades a kol. ve své práci jako efektivní čistící postup při extrakci pesticidů [57]. Během této snadno přístupné metody je tuhý sorbent přímo nadávkován do kapalného roztoku vzorku bez potřeby jeho předchozí úpravy. Celý extrakční proces, viz obrázek 1b, poté vyžaduje pouze nástroj na promíchání a centrifugu. Tento přístup zajišťuje vysokou kontaktní plochu mezi sorbentem a vzorkem, jež umožňuje rychlé dosažení extrakční rovnováhy. Výsledná metoda se prokázala být rychlou, efektivní a ekologickou uvažíme-li malá množství sorbentu a rozpouštědel jež jsou zapotřebí v porovnání s tradičními SPE technikami [58]. Ačkoliv tato technika zaznamenala od svého vzniku značný rozvoj, několik nedostatků přetrvalo, např. komplikované odstranění interferujících sloučenin a s nimi spojený zřetelný vliv matice[59].

Ve spojení se superparamagnetickými nanočásticemi následně dochází k vylepšení a usnadnění kolekce disperzního sorbentu. Jak je patrné z obrázku 1c, odpadá tím potřeba centrifugačního či filtračního kroku po extrakci [60]. Robinson a kol. [61] uvádí první použití těchto tzv. magnetických nosičů, kde byla jejich aplikace demonstrována s imobilizovanými enzymy. Velikost těchto částic se typicky pohybuje v rozmezí průměru 1-100 nm a bývají složeny z několika vrstev. Magnetické jádro může být tvořeno železem, niklem, kobaltem nebo jejich oxidy. Magnetit (Fe_3O_4) bývá používán nejčastěji, jelikož nezadržuje magnetismus po odstranění externího magnetického pole [60]. Magnetická částice je obvykle pokryta vrstvou anorganického oxidu (křemičitý, hlinitý atd.), která může být chemicky modifikována nebo pokryta polymerem za účelem úpravy selektivity. Přese všechny výhody magnetické disperzní extrakci tuhou fází se jí stále nedostává širší komerční dostupnosti [62].



Obrázek 1 Obecné schématické zobrazení (a) extrakce tuhou fází (SPE), (b) mikroextrakce disperzní tuhou fází (D- μ SPE), a (c) magneticky asistovaná mikroextrakce disperzní tuhou fází (m-D- μ SPE). Převzato a přeloženo z [63].

4.2.3 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je nejznámějším zástupcem miniaturizovaných SPE technik. Byla představena v roce 1990 ve článku Arthura a Pawliszyna [64]. Stacionární fáze je ukotvena na křemenném vláknu, které může být vysunuto a po extrakci zasunuto. Například při propichování septa vialky je vlákno skryto uvnitř jehly, poté je vysunuto do roztoku (DI-SPME) nebo do parního prostoru (HS-SPME). Kapalný či pevný vzorek může být zahřát, aby se podpořil přenos analytů do parního prostoru. Po proběhnutí extrakce je vlákno opět zasunuto a připraveno k desorpci, která může být provedena zvýšením teploty nebo pomocí rozpouštědla. Vlákno musí být před prvním použitím kondicionováno podle návodu výrobce. Aby se zabránilo „carry over“ efektu během používání, bývá vlákno čištěno (tepelně desorbováno) při 250 °C (popřípadě jiná maximální teplota uvedená výrobcem) po dobu od 15 do 60 minut v závislosti na charakteru analytů. Samotná extrakce může trvat libovolně dlouho dle charakteru zkoumaných látek od 1 do 30 minut, ale třeba i 2 hodiny. Obvykle se používá pokojová či mírně vyšší teplota, ale třeba při analýze méně těkavých či výše vroucích látek i 120 °C. SPME je technika, která extrahuje a zároveň zakoncentrovává. Nevyužívá žádná

rozpouštědla, pokud není desorbce provedena do rozpouštědla (nepříliš časté). Pro podpoření přechodu látek do parní fáze, je možné použít vysolování, kdy se ke kapalnému vzorku přidá nasycený roztok NaCl. SPME se používá pro různě těkavé látky a díky široké škále vláken s různými sorbenty je možné extrahovat polární i nepolární látky [38, 54].

4.2.4 Sorpční extrakce míchadlem

Sorpční extrakce míchadlem (SBSE) byla představena roku 1999 ve článku Sandra a Baltussen [65]. Tato technika je podobná SPME, ale oproti ní poskytuje větší sorpční kapacitu. Konstrukčně se jedná o magnetické míchadlo potažené sklem se zakotveným sorbentem. Komerčně bývá označován jako „Twister“. Nejčastěji používaný sorbent je polydimethylsiloxan (PDMS) jehož vrstva je 0,5 nebo 1 mm a délka míchadla může být 10 nebo 20 mm. Mimo PDMS je možné použít i jiné sorbenty. Před prvním použitím je zapotřebí míchadlo kondicionovat podle návodu výrobce, nejčastěji zahřátím na 300 °C na několik hodin. Poté je míchadlo umístěno přímo do roztoku (DI), nebo je zavěšeno v parním prostoru (HS). Extrakce může být ovlivněna extrakčními parametry, jako je doba a teplota extrakce, pH, koncentrace soli, rychlost míchání a poměr objemu vzorku k objemu sorbentu míchadla. Po extrakci je míchadlo vyjmuto, opláchnuto čistou vodou, vysušeno papírem a připraveno k tepelné desorpci, nebo k desorpci rozpouštědlem. Tepelná desorpce se provádí v termální desorpční jednotce, která je připojena ke GC či GC-MS. Vzhledem k většímu množství sorbentu je trvání desorpce delší. Probíhá při teplotách od 250 do 300 °C po dobu 2 až 4 minut v proudu inertního plynu, obvykle He. Součástí jednotky bývá kryofokusační krok, který je pro dosažení úzkých píků nezbytností [38].

Ačkoli je tepelná desorpce jednodušší, je omezena na tepelně stabilní těkavé až polotěkavé látky, zatímco desorpce rozpouštědlem je obvykle vhodnější pro polotěkavé až netěkavé a termolabilní sloučeniny. Důležitými proměnnými při desorpci rozpouštědlem jsou typ rozpouštědla (např. methanol, acetonitril, směsi), doba namáčení a počet desorpčních kroků, přičemž pro zvýšení účinnosti je nezbytné úplné ponoření míchadla do rozpouštědla podpořené mícháním nebo ultrazvukem. Tepelná desorpce má výhodu v možnosti „on-line“ uspořádání, jelikož umožňuje přímé a úplné zavedení vzorku do GC systému, což podporuje vysokou citlivost a možnost automatizace pro rutinní analýzu. Na druhou stranu desorpce rozpouštědlem představuje „off-line“ přístup, který nabízí možnost opakované analýzy a kromě toho, že je nákladově velmi efektivní, je schopen pracovat nejen v kombinaci s GC, ale i v kombinaci s HPLC [66].

4.3 Moderní materiály

4.3.1 Iontové kapaliny

Iontové kapaliny (IL) jsou látky patřící do skupiny solí v kapalném skupenství s bodem tání nižším než 100 °C, jež jsou tvořené kombinací organických kationtů a organických či anorganických aniontů [66]. Mimo charakteristicky vysoké vodivosti, tepelné a elektrochemické stability a zanedbatelné tenze par při pokojové teplotě, je to především syntetická universálnost, jež je největší předností těchto látek. Je tak možné, vhodným výběrem iontových součástí a začleněním funkčních skupin do jejich struktury, připravit iontovou kapalinu, jež má specifické a cílené fyzikálně-chemické vlastnosti jako jsou rozpustnost, viskozita, či schopnost interakce s jinými chemickými látkami [5].

Iontové kapaliny a jejich deriváty byly zkoumány v mnoha aplikacích v mnoha různých oborech, včetně elektrochemických aplikací a skladování energie, syntéz a katalýz, zpracování biomasy, absorpce a separace plynů, extrakčních a separačních technik. Použití iontových kapalin jako extrakčních rozpouštědel pro separaci a stanovení anorganických, organických a bioaktivních sloučenin dokazuje jejich vynikající analytické vlastnosti při současném snížení spotřeby a toxicity použitých látek, především v porovnání s konvenčními organickými rozpouštědly [67].

Iontové kapaliny bývají také často součástí dalších extrakčních postupů, jako je extrakce podporovaná mikrovlnným zářením (MWAE), extrakce podporovaná ultrazvukem (USAЕ) nebo vodné dvoufázové systémy (ABS). Tyto metody jsou obecně zaměřeny na izolaci chemických sloučenin z pevných či kapalných vzorků, kde se spotřeba iontových kapalin pohybuje od 0,15 do 5 ml. Zároveň však bývají součástí mikroextrakčních technik, jmenovitě DLLME, SDME a HF-LPME, kde je použito menšího množství iontových kapalin pohybující se v řádech jednotek až stovek μl [68].

4.3.2 Hluboce eutektická rozpouštědla

Hluboce eutektická rozpouštědla (DES) byla poprvé představena v práci Abbotta a kol. [69], kde v roce 2002 demonstroval možnost vzniku kapalného rozpouštědla při pokojové teplotě ze dvou tuhých materiálů s výrazně vyšší teplotou tání. Nejčastější příkladem je močovina s bodem tání při 133 °C a 302 °C pro cholin chlorid. Od té doby výrazně roste počet

článků zabývajících se jejich fyzikálními a chemickými vlastnostmi, stejně jako způsoby jejich aplikace jako alternativní rozpouštědla [48].

Obecně je předpokládáno, že DES je tvořeno vznikem komplexu mezi donorem vodíkové vazby (HBD) a akceptorem vodíkové vazby (HBA), který je dále stabilizován silnými vodíkovými můstky, což způsobuje výrazné snížení teploty tuhnutí výsledné směsi. Tyto látky sdílí některé vlastnosti s iontovými kapalinami, oproti nim však bývají snazší na přípravu a jsou založené na obnovitelných a udržitelnějších surovinách s nižší toxicitou a velmi dobrou biologickou rozložitelností. Vlastnosti DES závisí na struktuře, poměru HBA/HBD a obsahu vody při jejich přípravě, což přináší velkou výhodu ve formě možnosti cíleného ladění specifických vlastností výsledného DES [47].

4.3.3 Moderní uhlíkové materiály

V posledních letech upoutala tato skupina materiálů značnou pozornost jak v analytické přípravě vzorku, tak i mimo tuto oblast, především díky svým výjimečným fyzikálním a chemickým vlastnostem, jmenovitě jejich flexibilitě, velkou plochou povrchu s delokalizovanými π -elektrony a snadno modifikovatelným povrchem [70]. Jejich struktura je postavená na hexagonálně uspořádaných sp^2 hybridizovaných atomech uhlíku. Jedna vrstva takového materiálu se nazývá grafen (G) a společně s oxidem grafenu (GO) představují hlavní dvourozměrné zástupce. Rozdíl mezi nimi spočívá v přítomnosti kyslíkatých funkčních skupin, což způsobuje, že G je nepolární, hydrofobní materiál s vysokou afinitou k aromatickým strukturám. Naproti tomu je možné připravit hydrofilní GO schopný ve vodě tvořit stabilní koloidní suspence [71]. Mezi trojrozměrné zástupce patří zejména uhlíkové nanotrubičky (CNT), které s G sdílí již popsané výhody, jen s drobnými rozdíly. Adsorpce v případě CNT může probíhat pouze na vnější straně, jelikož vnitřní stěna je blokována sterickou výlukou. Navíc G a GO jsou snadněji připravitelné v laboratorních podmínkách, zatímco CNT vyžaduje výrazně náročnější postup přípravy. Přese všechny zmíněné výhody, jsou tyto materiály při jejich samostatném využití v přípravě vzorku limitovány svou obtížnou rozpustností a omezenou selektivitou [70].

4.3.4 Metalo-organické materiály

Metallo-organické materiály (MOF) patří mezi vysoce porézní, krystalické materiály tvořené ionty kovů nebo jejich shluky a organickými ligandy označovanými jako sekundární stavební jednotky (SBU). Ionty kovů vystupují jako uzly nebo centra a organické spojovníky

fungují jako mosty propojující uzly koordinačními vazbami, čímž vzniká uspořádaná síť plná pórů, kanálů a dutin [63]. MOF je tak materiál s největším povrchem [72].

Další atraktivní vlastností MOF je jejich syntetická laditelnost založená na možnosti upravovat strukturu, porozitu a hustotu volbou různých kombinací SBU a kontrolou experimentálních podmínek syntézy. Tudíž, velký organický spojovník zvyšuje ve výsledném MOF porozitu, čímž se zvýší i plocha povrchu, a tím i kapacita adsorbentu. Navíc jejich robustnost dovoluje modulaci jejich vlastností i po syntéze. To je hlavně v důsledku relativní síly koordinačních vazeb mezi kovem a organickým ligandem. Nicméně, velké prostory v těchto materiálech s velmi nízkou hustotou mohou vést k chemické a tepelné nestabilitě při odstranění rozpouštědla. To přináší jistou výzvu při navrhování stabilních MOF, které si zachovají své krystalické a porézní vlastnosti i v různých pracovních prostředích [63].

5 Praktická část

5.1 Charakterizace profilu těkavých látek ve vzorcích dřeva pomocí mikroextrakce tuhou fází

V této publikaci byla vyvinuta metoda pro izolaci těkavých látek ze vzorků dřev pomocí mikroextrakce tuhou fází z parního prostoru (HS-SPME). Metoda byla optimalizována za použití centrálního kompozitního plánování. Optimalizace extrakční teploty a extrakčního času byla provedena v rozmezích 40-120 °C a 10-90 minut. Optimalizovaná extrakční metoda byla kombinována s GC-MS za účelem separace a identifikace těkavých sloučenin ve vzorcích dřev sedmi druhů stromů. Jednalo se o opadavé stromy (akát, olše, buk, jilm, modřín, javor a dub), jež se běžně vyskytují ve střední Evropě. Celkem bylo v profilech těkavých látek identifikováno 185 organických látek, které byly dále zařazeny podle typu sloučenin do 16 skupin.

Článek byl publikován v zahraničním odborném časopise *Natural Product Communications* a je uveden jako Příloha I [73].

5.1.1 Statistické vyhodnocení designu experimentu

Jelikož má studovaná matrice velké množství těkavých látek různých polarit, bylo vybráno komerčně dostupné SPME vlákno se sorbentem divinylbenzen/karboxen/polydimethylsiloxan (DVB/CAR/PDMS). Optimalizace extrakční teploty a extrakčního času SPME metody byla provedena ve 12 experimentech (8 plus 4 centrální body), které byly určeny centrálním kompozitním plánováním. Jednotlivé experimenty byly provedeny v náhodném pořadí, zatímco centrální body byly rovnoměrně rozprostřeny skrz celý design, aby nedošlo k systematické chybě.

Vzhledem k cíli této práce, extrahovat a identifikovat co nejvíce látek, byl jako sledovaná veličina vybrán celkový počet píků (NoP) ve výsledných chromatogramech. Nejvyššího NoP bylo dosaženo za následujících podmínek: extrakční teplota byla v rozsahu od 95 °C do 115 °C a extrakční čas od 10 do 20 minut. Jako optimální extrakční podmínky zvoleny extrakční teplota 105 °C a doba extrakce 15 minut.

5.1.2 Analýza reálných vzorků

Vyvinutá HS-SPME metoda byla použita při analýze profilů VOC sedmi druhů dřev. Všechny identifikované látky byly kategorizovány na základě jejich struktury do 16 skupin, viz tabulka 1. Jak je patrné, každá skupina byla přítomna minimálně ve dvou vzorcích.

Tabulka 1 Chemické složení (% rel.) profilu těkavých látek. Převzato z [73].

	<i>Akát</i>	<i>Olše</i>	<i>Buk</i>	<i>Jilm</i>	<i>Modřín</i>	<i>Javor</i>	<i>Dub</i>
<i>Alkoholy</i>	1,20	n.i.	<0,1	<0,1	n.i.	0,11	n.i.
<i>Karboonylové sloučeniny</i>	27,84	19,71	1,68	2,73	0,42	8,32	4,35
<i>Kyseliny</i>	6,28	2,12	5,12	0,19	0,98	0,35	29,64
<i>Estery</i>	12,73	13,54	1,95	8,34	n.i.	9,22	2,68
<i>Monoterpeny</i>	n.i.	n.i.	0,19	n.i.	3,74	<0,1	0,11
<i>Oxidované monoterpeny</i>	1,64	1,36	1,44	n.i.	4,39	0,17	0,57
<i>Seskviterpeny</i>	n.i.	n.i.	n.i.	6,28	26,23	n.i.	n.i.
<i>Oxidované seskviterpeny</i>	2,11	5,06	1,62	33,62	3,50	6,24	0,61
<i>Diterpeny</i>	0,57	0,62	4,07	0,19	13,08	n.i.	3,17
<i>Oxidované diterpeny</i>	0,26	0,76	10,34	n.i.	18,13	1,00	1,96
<i>Alifatické uhlovodíky</i>	21,53	12,85	43,03	5,97	0,48	53,07	24,62
<i>Aromaticky uhlovodíky</i>	0,15	0,23	1,07	10,48	n.i.	1,64	0,64
<i>Fenolické sloučeniny</i>	0,34	0,42	2,88	<0,1	1,04	0,57	2,31
<i>Apokarotenoidy</i>	0,59	0,91	n.i.	0,22	n.i.	0,63	n.i.
<i>Laktony</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0,29	0,43
<i>Ostatní</i>	0,37	0,33	<0,1	<0,1	0,16	0,32	0,13

n.i. – sloučeniny nebyly identifikovány

5.2 Využití metod HS-SPME a OPLS pro rozlišení původu vzorků modřínového dřeva

Optimalizovaná metoda HS-SPME (viz kapitola 5.1) kombinovaná s plynovou chromatografií s plamenově ionizačním detektorem byla použita pro rozlišení modřínového dřeva pocházejícího ze střední Evropy a ze Sibíře na základě rozdílných profilů VOC. Zjištěná variabilita obsahu a počtu VOC je ovlivněna mnoha faktory, mezi které patří vliv genetiky, životního prostředí a lokální územní vlivy. Navrhovaná metoda byla použita za účelem proměření VOC profilů 82 vzorků evropského a sibiřského modřínu. Jednotlivé VOC v profilu byly charakterizovány pomocí retenčních indexů (RI) a ploch píků, které byly následně statisticky analyzovány metodou ortogonální projekce do latentních struktur (OPLS). Tento postup byl schopen rozlišit správný původ všech 82 vzorků modřínového dřeva.

Článek byl publikován v zahraničním odborném časopise *European Journal of Wood and Wood Products* a je uveden jako Příloha II [74].

5.2.1 Výběr vhodného SPME vlákna

Podle doporučení výrobce týkající se extrakce nepolárních látek byla vybrána dvě SPME vlákna pro testování vhodnosti extrakce VOC ze vzorků modřínového dřeva. Z výsledků uvažujících NoP a celkovou plochu píků (TPA) uvedených v tabulce 2 je patrné, že směsné vlákno DVB/PDMS/CAR poskytlo vyšší NoP i vyšší TPA oproti PDMS vláknu, které za všech podmínek vykazovalo nižší účinnost. Z tohoto důvodu bylo DVB/PDMS/CAR vlákno vybráno pro účely této práce.

Tabulka 2 Porovnání výsledků HS-SPME-GC-FID analýz získaných pomocí PDMS a DVB/CAR/PDMS vláken, vyjádřených pomocí NoP a TPA závislých na daných podmínkách. Převzato z [74].

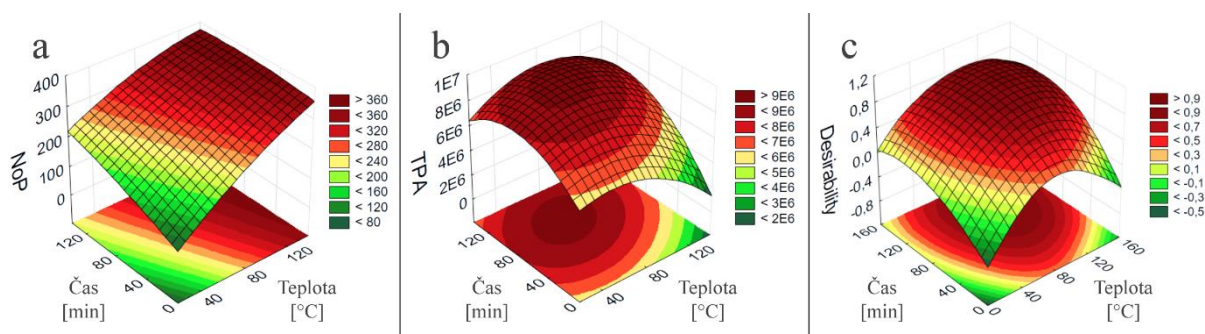
Extrakční teplota [°C], Extrakční čas [min]	100 μ m PDMS		50/30 μ m DVB/PDMS/CAR	
	NoP	TPA	NoP	TPA
30, 50	65	3,61E+06	163	8,48E+06
30, 90	69	1,21E+06	183	9,30E+06
75, 90	167	1,43E+06	297	9,18E+06
120, 90	289	1,29E+06	362	7,57E+06

5.2.2 Parametry optimalizace HS-SPME

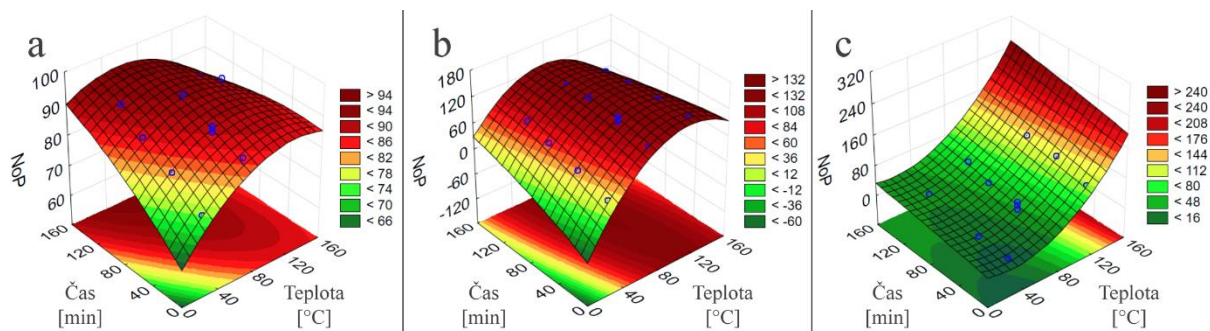
Byl testován vliv extrakční teploty a extrakčního času na NoP a TPA. Pro získání modelů odezvových ploch pro NoP a TPA spolu s kritickými hodnotami pro extrakční teplotu i extrakční čas byl použit statistický software Statistica 12 (StatSoft ČR, Praha, Česká republika). Kritické hodnoty pro TPA model byly 72,3 °C a 94,5 min (viz Obr. 2b). V případě NoP (Obr. 2a) nebylo dosaženo maxima, což znamená, že kritické hodnoty nezávislých proměnných leží mimo definované rozmezí extrakčních parametrů, a proto nemohly být zjištěny.

Důvod tohoto jevu může být nalezen po přibližném rozdělení VOC profilu do tří oblastí: první oblast s RI do 1260, druhá oblast s RI od 1261 do 1785 a třetí oblast s RI vyšší než 1785. Pro každou zmíněnou oblast byla sestrojena závislost na extrakční teplotě a času (Obr. 3). Prozkoumáním výsledků bylo zjištěno, že konstantní růst NoP byl dán především látkami s vyšším RI.

Použitím hodnot z TPA modelu by došlo k extrakci menšího počtu látek ve větším množství a některé látky s vyšším RI by mohly být zcela vynechány. Abychom tomu předešli, byl zkombinováním modelů NoP a TPA sestrojén model vhodnostních ploch (Obr. 2c), který již maxima dosahuje. Na základě tohoto modelu byly vybrány optimální parametry extrakce: extrakční teplota 115 °C a extrakční čas 110 min.



Obrázek 2 Grafy ukazující vliv extrakční teploty a extrakčního času na NoP (a) and TPA (b). Graf vhodnostní plochy (c) ukazuje kombinaci obou předchozích grafů. Převzato a přeloženo z [74].



Obrázek 3 Grafy NoP pro první oblast s RI do 1260 (a), druhá oblast s RI od 1261 do 1785 (b), třetí oblast s RI vyšší než 1785 (c). Převzato a přeloženo z [74].

5.2.3 Statistické vyhodnocení aromaprofilů pomocí OPLS

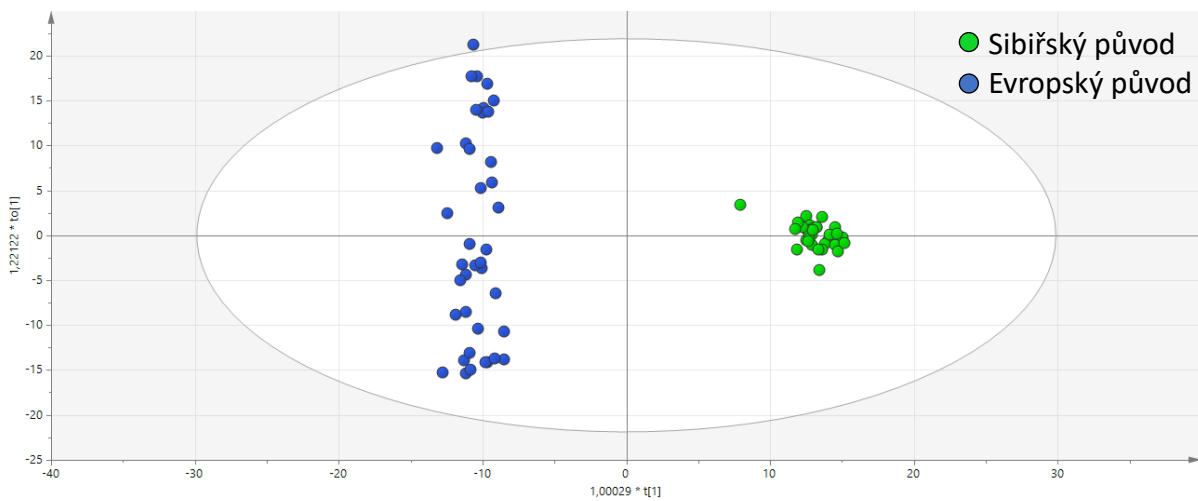
Všech 82 vzorků modřínového dřeva bylo zanalyzováno optimalizovanou metodou HS-SPME-GC-FID. Predikce jednotlivých vzorků byla provedena následujícím způsobem. Po integraci všech chromatogramů byly do datasetu vybrány pouze píky s plochou desetinásobně větší než hodnota šumu. Data byla transformována, aby se získala jejich symetrická distribuce. Pomocí Hotellingovy T2 statistiky byla prověřena homogenita prediktorů a pomocí statistiky „Variability Importance“ byla otestována významnost prediktorů. Poté byly vypočítány následující parametry:

- komponentní zátěže pro jednotlivé proměnné k určení korelací relevantních prediktorů s OPLS prediktivní komponentou a % variability, které mohou být vysvětleny modelem,
- regresivní koeficienty pro model vícenásobné regrese k určení vztahů mezi původem modřínu (proměnná Y) a prediktory (proměnná X),
- predikované hodnoty pro všechna pozorování,
- pravděpodobnost sibiřského a evropského původu pro všechny jednotlivé subjekty,
- citlivost a specificita predikce.

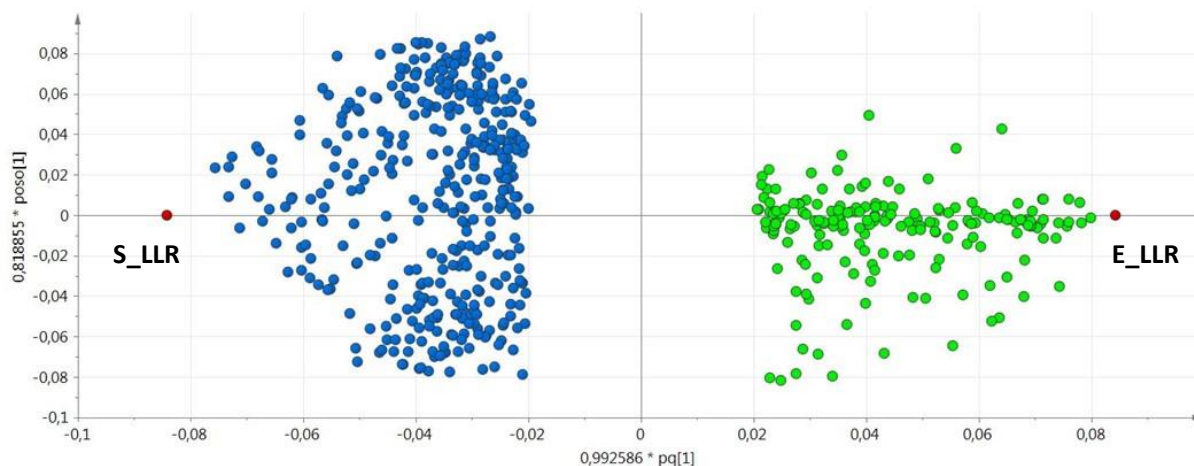
OPLS model měl jednu prediktivní komponentu a dvě ortogonální komponenty. Obrázek 4 zobrazuje „score scatter plot“ informující o variaci mezi skupinami (prediktivní komponenta, osa X) a uvnitř skupiny (první ze dvou ortogonálních komponent, osa Y). Je zde patrná nízká variace mezi pozorováními ve skupině vzorků evropského modřínu v porovnání se sibiřskou skupinou, tzn. větší rozdíly v aromaprofilu sibiřských vzorků, než je tomu u evropských. Z „loading scatter plot“ (obr. 5) je patrný větší počet prediktorů korelujících se

závislou proměnnou na levé straně, což znamená, že větší počet látek vystupuje jako prediktory pro sibiřský modřín (389 z 576) oproti evropskému modřínu (187 z 576).

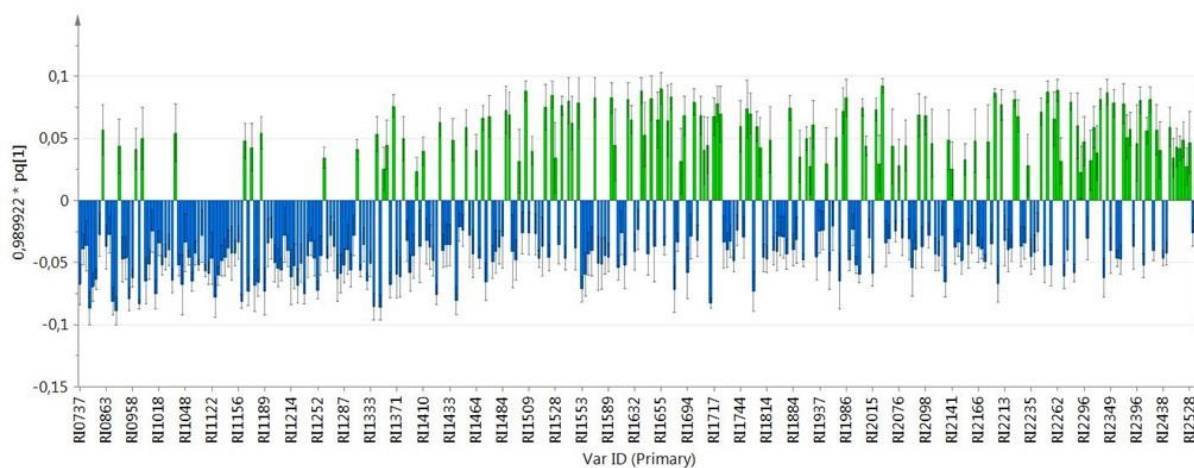
Za vyzdvihnutí stojí distribuce vektorů koeficientů každého prediktoru (obr. 6). Tyto koeficienty vyjadřují sílu korelace závislé proměnné s prediktory. Pozoruhodná je oblast s RI do 1300, tedy oblast těkavějších látek, kde je velká většina látek charakteristická pro sibiřský modřín, což dělá tuto oblast velmi důležitou pro jejich klasifikaci. Absence těchto látek s nižším bodem varu v aromaprofilu evropského modřínu může být dána rozdílnými životními podmínkami, například vyšší teplotou, větším množstvím živin či slunečního svitu.



Obrázek 4 „Scores scatter plot“ shrnující vztahy mezi pozorováními. Osa X, vztahy mezi skupinami sibiřských vzorků (levá skupina) a evropských vzorků (pravá skupina) modřínů jsou reprezentovány prediktivní komponentou. Osa Y, vztahy v rámci skupin jsou reprezentovány první ortogonální komponentou. Převzato z [74].



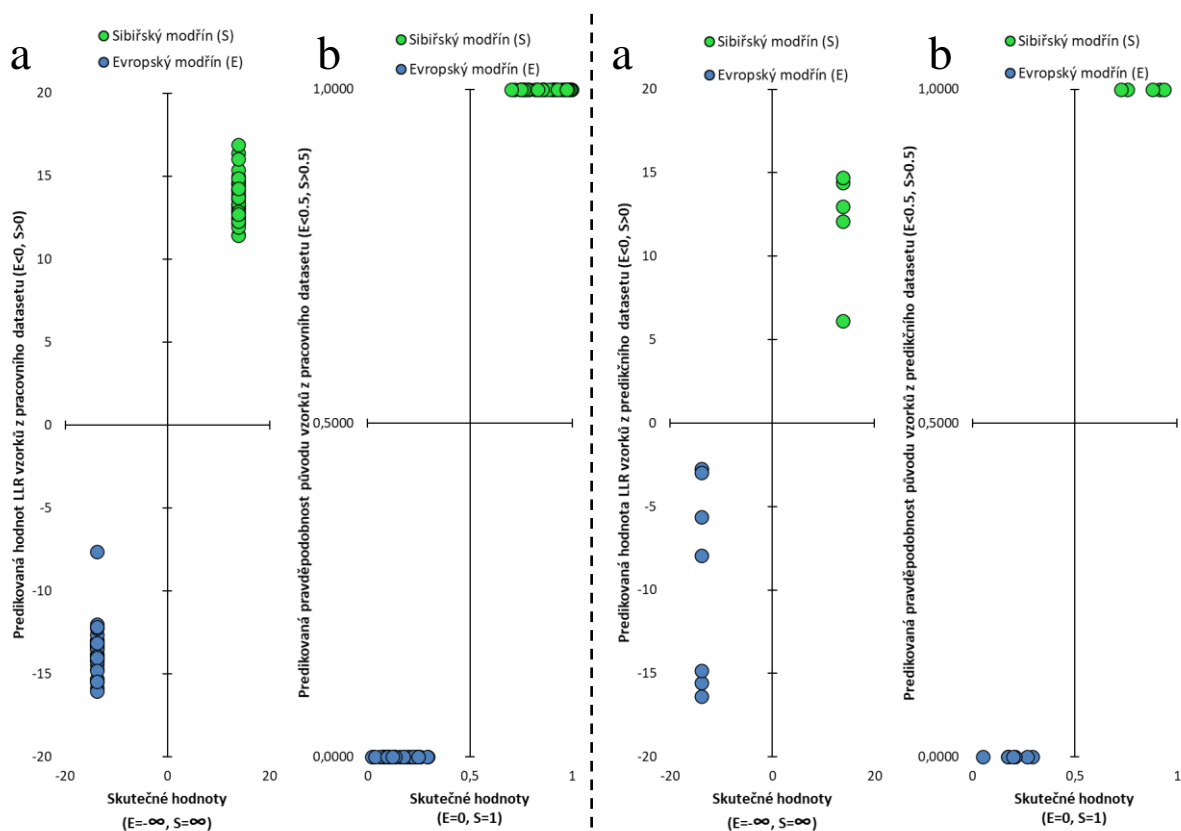
Obrázek 5 „Loading scatter plot“ zobrazuje vztahy mezi X- a Y-proměnnými prediktivní komponenty (osa X) a první ortogonální komponenty (osa Y). Převzato z [74].



Obrázek 6 „Coefficient plot“ zobrazuje korelaci pravděpodobnosti evropského původu vzorku modřínu k jednotlivým píkům charakterizovaných pomocí retenčních indexů. Prediktory s nevýznamnými (podle chybových úseček, interval spolehlivosti 95 %) koeficienty byly vyřazeny z diagramu. Převzato z [74].

Obrázek 7. zobrazuje predikční schopnost modelu pomocí dvou grafů srovnávajících skutečné hodnoty s hodnotami pravděpodobnosti, že je subjekt z pracovního datasetu původem sibiřský/evropský modřín. Finální OPLS model prokázal dobré rozlišovací schopnosti, citlivost 1,000 (0,910; 1,000) a specificitu 1,000 (0,890; 1,000) pro predikci sibiřského modřínu v souboru testovaných vzorků (usuzováno na 95% úrovni spolehlivosti). To znamená, že všechny pozitivní subjekty (tj. sibiřský modřín) byly označeny jako pozitivní a žádný z negativních subjektů nebyl označen jako falešně pozitivní. Samotná schopnost modelu predikovat byla ověřena použitím predikčního datasetu složeného z dat vzorků, jež nebyly použity v pracovním datasetu. Tedy taková data, jež nebyla použita pro kalibraci modelu.

Obrázek 8. zobrazuje, že všech 12 vzorků z predikčního datasetu bylo klasifikováno správně. Tím bylo demonstrováno, že těkavé látky extrahované z modřínového dřeva použitím HS-SPME-GC-MS mohou být použity jako prediktory pro určení původu modřínového dřeva.



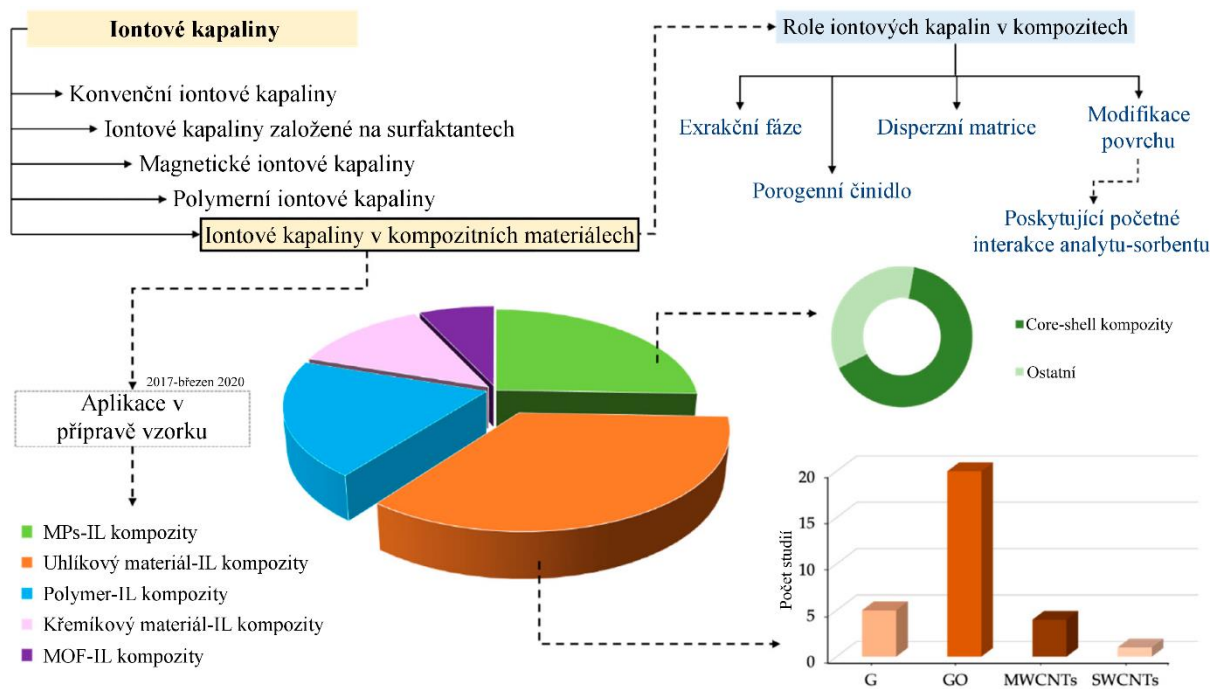
Obrázek 7 Rozlišení vzorků dřev sibiřského/evropského modřínů (S/E) OPLS statistickou analýzou aromaprofilů získaných pomocí HS-SPME-GC-FID. Vzorky z pracovního (kalibračního) datasetu (31 vzorků evropského modřínu, 39 vzorků sibiřského modřínu). Převzato a přeloženo z [74].

Obrázek 8 Rozlišení vzorků dřev sibiřského/evropského modřínů (S/E) OPLS statistickou analýzou aromaprofilů získaných pomocí HS-SPME-GC-FID. Vzorky z predikčního datasetu (7 vzorků evropského modřínu, 5 vzorků sibiřského modřínu). Převzato a přeloženo z [74].

5.3 Iontové kapaliny v kompozitních materiálech a jejich role v přípravě vzorku

Iontové kapaliny (IL) jsou skupinou nekonvenčních solí s bodem varu nižším než 100 °C. Mimo jejich zanedbatelnou tenzi par při pokojové teplotě, vysoké tepelné stabilitě a působivé rozpouštěcí vlastnosti jsou IL charakterizovány především svou „laditelností“. Vzhledem k takřka nekonečným kombinacím kationtů a aniontů, a jednoduché modifikovatelnosti jejich struktury, může být připravena IL s velmi specifickými vlastnostmi. Tyto vlastnosti přilákaly mnoho pozornosti mimo jiné i jako extrakční fáze při přípravě vzorku především u metod extrakce kapalnou fází. Naproti tomu, vzhledem ke kapalnému charakteru většiny IL, jejich použití ve formě tuhých sorbentů vyžaduje přípravu derivátů jako polymerní IL nebo v kombinaci s ostatními materiály jako tuhé kompozitní materiály. Při jejich přípravě byly použity magnetické částice, uhlíkové materiály, polymery, materiály na bázi křemíku a metalo-organické materiály. Toto shrnutí dává přehled o přípravě a aplikaci kompozitních materiálů na bázi IL pro přípravu analytických vzorků v období 2017–2020 (březen 2020) se speciálním zřetelem na porozumění roli a významu IL a ostatních součástí v těchto kompozitech.

Článek byl publikován v zahraničním odborném časopise *Separations* a je uveden jako Příloha III [75].



Obrázek 9 Přehled publikovaných studií v období 2017–2020 (do března). MPs – magnetické částice, MOF – metalo-organické materiály, G – grafen, GO – grafen-oxid, MWCNTs – mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky, SWCNTs – jednostěnné uhlíkové nanotrubičky. Převzato a přeloženo z [75].

Jak je patrné z obrázku 9, nejčastěji byly IL kombinovány s uhlíkovými materiály, následovány polymerními a magnetickými kompozity. IL byly nejčastěji použity v roli modifikátoru povrchových vlastností tuhých sorbentů za účelem zlepšení účinnosti extrakce a selektivity přidáním nových možností interakce jako jsou vodíkové vazby, π - π , elektrostatická, hydrofilní a hydrofobní interakce. Ukotvení IL na povrchu tuhých sorbentů také vylepšilo přenos hmoty a urychlilo proces extrakce v důsledku větší plochy povrchu vzniklého kompozitu. V tomto smyslu jsou IL obvykle hlavní součástí kompozitu odpovědnou za extrakční vlastnosti.

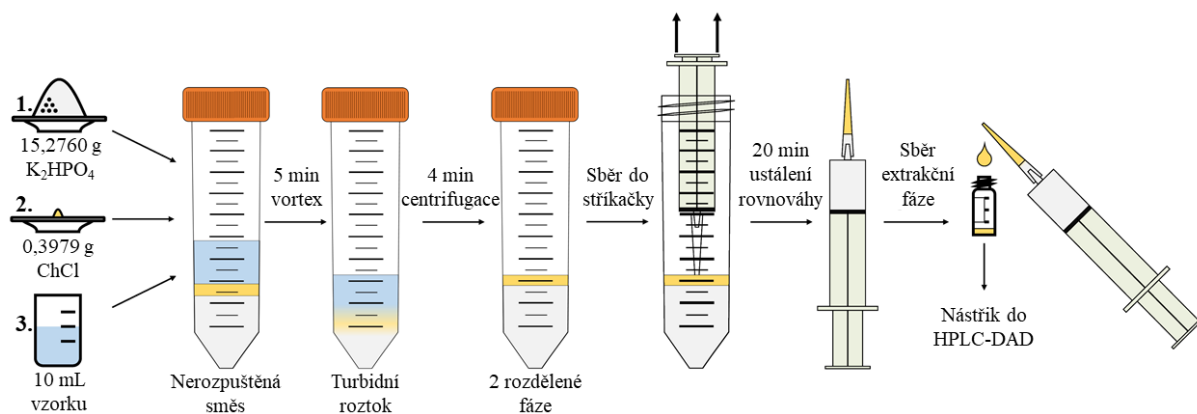
Mimo povrchových modifikací byly IL v kombinaci s ostatními materiály použity pro přípravu komplexnějších a komplikovanějších struktur, jako jsou molekulárně imprintované polymery s IL jako monomerem, polymery s materiálem na bázi křemíku, nebo „bucky gel“ s uhlíkovými materiály. V těchto případech se IL neúčastnila pouze extrakce analytu, ale také hrála důležitou roli ve výsledném charakteru kompozitního materiálu. Použití IL tedy také zlepšuje disperzi tuhých materiálů pro přípravu homogennějších sorbentů a vylepšuje porozitu a prostupnost kompozitu.

Je důležité zdůraznit, že vlastní práce by měly vždy brát v úvahu následující: porovnat extrakční účinnosti jednotlivých součástí, ale i konečného kompozitu pro objasnění nezbytnosti a užitečnosti všech materiálů použitých v něm. Prakticky všechny publikace v posledních letech používaly konvenční IL na bázi imidazolu s alkylovým řetězcem, především methyl nebo alkylovým řetězcem se 4-16 uhlíky. Ačkoliv někteří autoři zkoumali vliv struktury IL na charakter a účinnost extrakce výsledného kompozitu, omezuje se jejich rozsah pouze na alkylové řetězce různých délek a různé anionty. Tudíž „laditelnost“ IL je v tomto směru využita jen velmi omezeně. Vzhledem k velkému množství připravitelných a snadno upravitelných IL, je důležitý posun v tomto směru a bylo by dobré využít tento benefit pro přípravu selektivních sorbentů se specifickými vlastnostmi pro konkrétní aplikace.

5.4 Využití ABS pro extrakci a prekoncentraci PCP ze vzorků odpadních vod

Byla vyvinuta miniaturizovaná extrakční a prekoncentrační metoda ABS složená z látek běžně používaných jako potravinářská aditiva: cholin chlorid (ChCl) jako hlavní extrakční fáze, K_2HPO_4 jako vysolovací prvek, voda jako hlavní komponenta a zároveň jako analytický vzorek. S cílem dosáhnout vysokého obohacovacího faktoru, miniaturizace a adekvátní analytické výkonnosti byl ve fázovém diagramu vybrán bod s nejnižším množstvím ChCl, jež odpovídá 1,55 % (w/w) ChCl, 59,5 % (w/w) K_2HPO_4 a 38,95 % (w/w) vody. Diskutovaná metoda byla použita v kombinaci s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s detekcí diodového pole (HPLC-DAD) pro stanovení 9 PCP ve vzorcích odpadních vod. ABS-HPLC-DAD metoda (viz obr. 10) vykazovala vysoké obohacovací faktory (až 100) a kvantitativní extrakční účinnosti pro ty látky, které ve své struktuře obsahují skupinu OH ve své struktuře, jež je schopna tvořit vodíkové vazby s ChCl. Pro skupinu parabenů a UV-filtr benzofenon-3 bylo dosaženo mezí stanovitelnosti až $0,8 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a extrakční účinnosti mezi 66,4 % a 108 % (pro koncentrační úrovně 1,3 a $13 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Metoda se vyznačuje použitím nezávadných činidel a absencí organických rozpouštědel v celém postupu přípravy vzorku, přičemž je jednoduchá, levná, kompatibilní s HPLC a vysoce účinná.

Článek byl publikován v zahraničním odborném časopise *Journal of Chromatography A* a je uveden jako Příloha IV [76].



Obrázek 10 Schéma optimalizované ABS-HPLC-DAD metody. Převzato a přeloženo z [76].

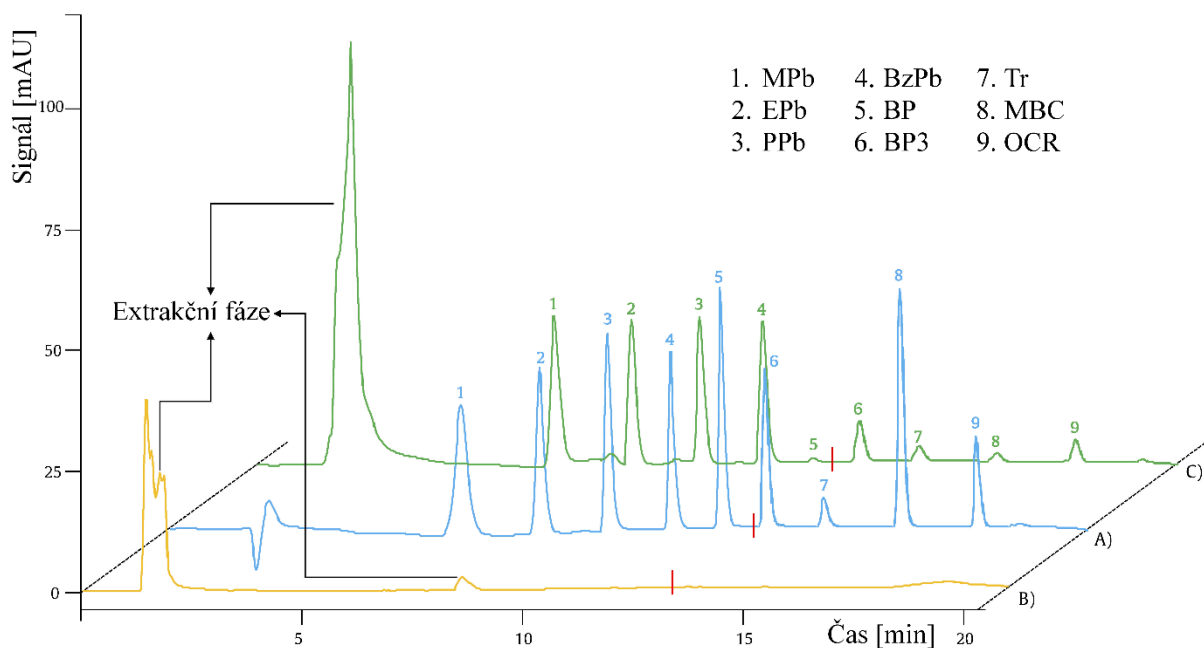
5.4.1 Výběr složení ABS

Složení ABS má zásadní vliv při tvorbě fází a zároveň ovlivňuje extrakční schopnosti systému. ChCl bylo použito jako extrakční fáze, zatímco K_2HPO_4 byl použit jako vysolovací činidlo. Navzdory užití i jiných solí v ABS založeném na ChCl , K_2HPO_4 byl použit pro svou relativně vysokou schopnost vytvářet vysolovací efekt, jež je dána tvorbou anorganických iontů s vysokou hustotou náboje a silnou interakcí s vodou. Lepší vysolovací schopnost znamená menší množství soli potřebné pro vytvoření dvou fází, tudíž snížení spotřeby reagentu. Tato sůl je běžně používána jako potravinářské aditivum (E340) v mléčných výrobcích a doplňcích stravy.

ABS složené z ChCl , K_2HPO_4 a vody bylo již v literatuře popsáno různými autory, jež uvádějí shodné fázové diagramy [40, 46]. V této práci byl kladen důraz na dosažení co nejvyššího zakoncentrování než na maximální extrakční účinnost. To bylo dosaženo snížením konečného objemu extrakční fáze a zajištěním vysokého objemového poměru mezi počátečním vzorkem a konečným extraktem. Složení směsi, jež opakovatelně poskytovala dvě fáze, bylo následující: 1,55 % (w/w) ChCl , 59,5 % (w/w) K_2HPO_4 a 38,95 % (w/w) vody, což pro objem vody/vzorku 10 ml znamená 0,3979 g ChCl a 15,2760 g K_2HPO_4 . Získaná extrakční ChCl fáze byla oddělena pomocí plastové stříkačky s nasazenou pipetovací špičkou.

5.4.2 Spojení ABS s HPLC-DAD

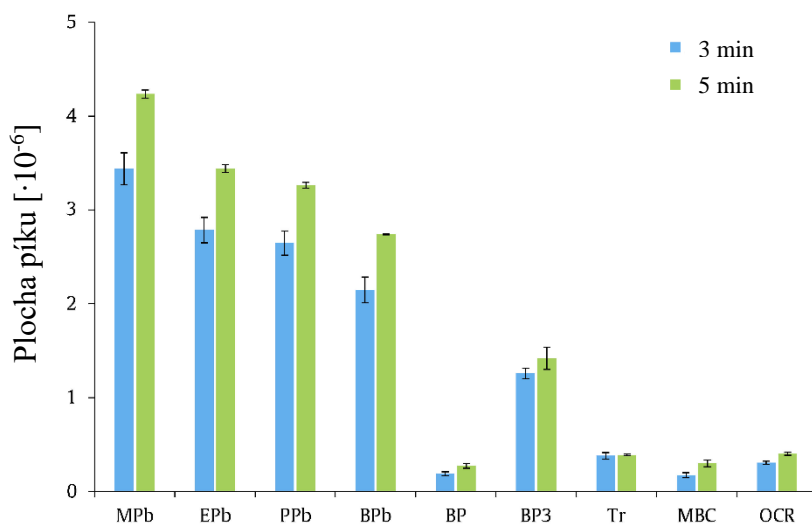
Pro vlastní využití optimalizovaného systému byla vybrána směs různých PCP látek ve vzorcích odpadních vod tak, aby pokrývala analyty s různou strukturou a vlastnostmi. Vybraná směs analytů obsahovala parabeny, UV-filtry a dezinfekční látky. Jejich stanovení bylo provedeno pomocí HPLC-DAD. Pro ověření, zda extrakční fáze neovlivňuje chromatografickou separaci a nebrání správné identifikaci, byla přímo (bez naředění) nadávkována do HPLC systému. Pozorování dominantního signálu na počátku chromatogramu indikuje, že ChCl jakožto hlavní komponenta extrakční fáze, se na koloně nezadržuje. Obrázek 11 zobrazuje chromatogramy získané po nástřiku PCP standardu v acetonitrilu, extrakční fáze po extrakci s použitím 10 ml čisté vody a extrakční fáze po extrakci 10 ml vodného PCP standardu. Po optimalizaci HPLC-DAD separace byla provedena externí kalibrace. Zjištěné analytické parametry instrumentální metody byly použity pro určení obohacovacího faktoru použitím ABS-HPLC-DAD.



Obrázek 11 Reprezentativní chromatogramy. (A – modrá linka) PCP standard v acetonitrilu obsahující každý analyt v koncentraci $3 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, (B – žlutá linka) extrakční fáze po ABS extrakci 10 ml ultra čisté vody, (C – zelená linka) extrakční fáze po ABS extrakci 10 ml vodného standardu obsahujícího všechny PCP analyty v koncentraci $34 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Červené linky označují přechod vlnové délky: 254 nm pro analyty 1. – 5. a 289 nm zbývající analyty. Převzato z [76].

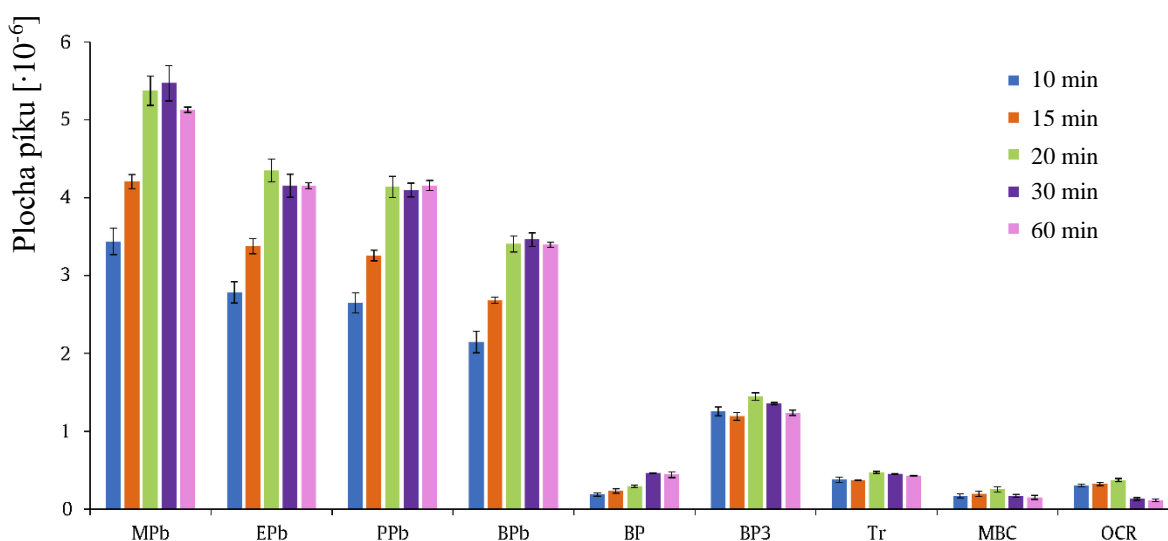
5.4.3 Optimalizace mikroextrakce pomocí ABS

Vypracování samotného fázového diagramu a volba bodu v bifázické oblasti vede přímo k množství činidel potřebných k dosažení požadovaných prekoncentračních úrovní, což samo o sobě představuje optimalizaci ABS metody. Existují však další experimentální podmínky, které je třeba vzít v úvahu, protože mohou ovlivnit účinnost extrakce, jako například doba míchání a doba ustálení rovnováhy v ABS. Tyto parametry byly proto optimalizovány.



Obrázek 12 Graf zobrazující vliv doby míchání na extrakční účinnost metody ABS-HPLC-DAD. Převzato z [76].

Míchání, potřebné pro počáteční rozpuštění činidel ve vodě a zároveň usnadňující vstup analytů z vodné fáze do extrakční fáze, bylo zkoumáno na dvou úrovních: 3 a 5 minut. Jak je patrné z obrázku 12, plochy píků rostou s rostoucí dobou míchání, ačkoliv pro některé látky je tento rozdíl prakticky nevýznamný. Proto jako optimální doba míchání bylo zvoleno 5 minut.



Obrázek 13 Graf zobrazující doby ustálení rovnováhy na extrakční účinnost metody ABS-HPLC-DAD. Převzato z [76].

Dalším zmíněným faktorem byla doba ustálení rovnováhy. Tedy čas, který je zapotřebí k úplnému rozdělení fází a zároveň zajistí adekvátní rozdělení analytů mezi fázemi. Zkoumány byly hodnoty v rozmezí od 10 do 60 minut s cílem získání nejvyšší extrakční účinnosti v nejkratším možném čase. Na obrázku 13 jsou zobrazeny plochy píků jednotlivých látek pro daný čas. Je patrné, že většina látek dosahuje dostatečného ustálení rovnováhy po 20 minutách, což bylo stanoveno jako optimální doba pro ustálení rovnováhy ABS.

5.4.4 Analytická výkonnost ABS-HPLC-DAD metody založené na ChCl

Kalibrační křivky ABS-HPLC-DAD metody byly připraveny ve dvou koncentračních rozsazích v závislosti na typu analytu: od 0,80 do 50 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro parabeny a BP3, od 3,0 do 50 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro zbylé analyty. Ve všech případech byla dosažena hodnota R^2 vyšší než 0,994. Citlivost metody, hodnocená jako směrnice kalibrační křivky, byla vyšší pro parabeny. Hodnoty limitu detekce (LOD) a limitu kvantifikace (LOQ) pro tuto skupinu analytů byly 0,24 a 0,80 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Pokud jde o UV filtry a dezinfekční prostředek, BP3 vykazoval nejvyšší kalibrační sklon, zatímco BP a MBC vykazovaly nejnižší hodnoty. Proto byly získány hodnoty LOD 0,90 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a LOQ 3,0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, s výjimkou BP3, pro který činily 0,24 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a 0,80 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ v uvedeném pořadí.

Analytická výkonnost celé metody byla hodnocena z hlediska přesnosti (měřená jako relativní směrodatná odchylka (RSD), relativní výtěžnosti, extrakční účinnosti pro všechny PCP analyty na koncentrační hladině 13 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Měření RSD v rámci jednoho dne tzv. „Intraday RSD“ se pohybovalo v rozmezí od 0,42 % pro benzylparaben do 18 % pro oktokrylen, zatímco „interday RSD“ (během třech nepřerušovaných dní) bylo vždy nižší než 16 % pro celou skupinu analytů. V rámci extrakční výkonnosti byl mimo jiných nejprve vypočítán obohacovací faktor E_F , jakožto poměr směrnic kalibračních křivek celé metody a pouze chromatografické metody. Tímto způsobem je prekoncentrační kapacita metody získána pro celý rozsah koncentrací. Získané hodnoty E_F ukazují, že parabeny a triclosan vykazují vyšší úroveň prekoncentrace od 76,3 pro triclosan až po 88,8 pro benzylparaben. Naproti tomu nejnižší hodnoty dosáhl benzofenon s 3,02.

Ze získaných výsledků a s přihlédnutím k fyzikálně-chemickým vlastnostem analytů lze konstatovat, že neexistuje korelace s ohledem na polaritu molekul analytů. Je však zřejmé, že výrazně vyšší extrakční účinnosti se dosahuje u analytů, které ve své struktuře obsahují OH skupinu. Parabeny, BP3 a triclosan tak vykazují vyšší afinitu k extrakční fázi založené na ChCl navrhované ABS metody. Toto chování může být způsobeno tvorbou vodíkové vazby mezi

ChCl jakožto akceptorem vodíkové vazby a těmito analyty, pro které může OH skupina působit jako donor vodíkové vazby. Zároveň stojí za zmínku možnost efektu sterické vyluky u BP3 a triclosanu vzhledem k poloze OH skupiny v jejich struktuře, jež může bránit vzniku vodíkové vazby, což by vysvětlovalo horší výsledky v porovnání se zcela odhalenými OH skupinami u parabenů.

5.4.5 Analýza vzorků odpadních vod

Vzorky odpadních vod ze dvou různých ČOV byly analyzovány metodou standardního přídatku. Kalibrační křivky byly připraveny v koncentračním rozsahu 0–22 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Získané směrnice kalibračních křivek byly porovnány se směnicemi získanými pomocí vodných standardů za účelem zjištění matricového efektu. Je patrné, že citlivost byla nižší pro skupinu parabenů, zatímco pro ostatní látky se mírně zvýšila. Matricový efekt byl zjištěn pro všechny analyty ve vzorku 1 a ve vzorku 2 byl zjištěn pro všechny kromě oktokrylénu.

Matricové efekty v případě UV-Vis detekce mohou být způsobeny v důsledku extrakce dalších sloučenin přítomných ve vzorku, jež mají vyšší afinitu k extrakční fázi, což vede k potlačení matricového efektu, anebo koextrakce a koeluce interferující sloučeniny ze vzorku, která vede k zesilujícímu matricovému efektu. Z toho vyplývá doporučení pro použití metod vnitřního standardu, standardního přídatku nebo jiných způsobů kalibrace zohledňující matricové efekty při použití navrhované ABS-HPLC-DAD techniky, aby došlo ke kompenzaci matricových efektů v případě komplexních vzorků.

V případě stanovení analytů ve vzorku byly vypočítány hodnoty P za účelem zjištění, zdali se úsek kalibračních křivek získaných metodou standardního přídatku rovná nule. Podle výsledků daného statistického testu se úsek pro mnohé PCP lišil od nuly, tudíž koncentrace těchto analytů mohla být vypočítána extrapolací kalibračních křivek. Obecně se dá říct, že ve vzorku odpadní vody číslo 2 mohla být kvantifikována většina analytů, jejichž koncentrace se pohybovala v rozmezí od $0,4 \pm 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro methylparaben a triclosan do $12 \pm 1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro benzofenon. V případě vzorku odpadní vody číslo 1 mohly být kvantifikovány pouze některé analyty v rozmezí od $0,5 \pm 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro triclosan do $9 \pm 1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro benzofenon.

Za zmínku stojí, že ačkoliv benzofenon byl analyt s nejvyšší koncentrací v obou vzorcích, je to také analyt, u něhož byl pozorován zesilující matricový efekt. To nasvědčuje možné koeluci jiných interferujících sloučenin, což bylo potvrzeno porovnáním UV-Vis spekter vzorku a standardního roztoku v retenčním čase charakteristickém pro benzofenon. Výsledky

pro tuto látku by tedy měly být ověřeny pomocí dalších technik (např. hmotnostní spektrometrie).

6 Závěr

Předložená disertační práce předkládá teoretické informace o studovaných maticích a stanovovaných analytech. Objemnější část je poté věnována způsobům přípravy vzorku, extrakce kapalnou fází, extrakce tuhou fází a moderním extrakčním materiálům.

Praktická část shrnuje získané výsledky publikovaných článků. První část se zabývá profily těkavých látek a jejich identifikací ve dřevěch sedmi druhů stromů a využití profilů VOC jako „fingerprintu“ pro rozlišení původu modřínů. Dále byla studována a popsána role iontových kapalin v kompozitních materiálech, kdy byly uceleně roztríděny a charakterizovány jednotlivé skupiny kompozitních materiálů v publikovaných pracích od roku 2017 do března roku 2020. Poslední část se věnuje optimalizované metodě mikroextrakce vodným dvoufázovým systémem aplikované při stanovení látek produktů denní potřeby v odpadních vodách.

7 Literatura

1. de la Guardia, M. and F.A. Esteve-Turrillas, *Handbook of smart materials in analytical chemistry* 2019: John Wiley & Sons.
2. Costa, R., *Newly introduced sample preparation techniques: towards miniaturization*. Critical reviews in analytical chemistry, 2014. **44**(4): p. 299-310.
3. Nowak, P.M., R. Wietecha-Posłuszny, and J. Pawliszyn, *White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2021: p. 116223.
4. Daryanavard, S.M., et al., *Recent applications of microextraction sample preparation techniques in biological samples analysis*. Biomedical Chromatography, 2021. **35**(7): p. e5105.
5. Hayes, R., G.G. Warr, and R. Atkin, *Structure and nanostructure in ionic liquids*. Chemical reviews, 2015. **115**(13): p. 6357-6426.
6. Sauer, C.O., *Fire and early man*. Paideuma, 1961(H. 8): p. 399-407.
7. Haynes, R.W., *An analysis of the timber situation in the United States: 1952 to 2050*. Gen. Tech. Rep. PNW-GTR-560. Portland, OR: US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 254 p, 2003. **560**.
8. Food and A. Organization, *FAO Yearbook of Forest Products 2016* 2018: FAO.
9. Rowell, R.M., *Handbook of wood chemistry and wood composites* 2012: CRC press.
10. Hon, D.N.S. and N. Shiraishi, *Wood and Cellulosic Chemistry, Second Edition, Revised, and Expanded* 2000: Taylor & Francis.
11. Thomas, P.A., *Trees: Their Natural History* 2000: Cambridge University Press.
12. Sjostrom, E., *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications*. Second ed 2013: Elsevier Science.
13. Rowe, J.W., *Natural Products of Woody Plants: Chemicals Extraneous to the Lignocellulosic Cell Wall* 2012: Springer Berlin Heidelberg.
14. Corcoran, E., *Sick water?: the central role of wastewater management in sustainable development: a rapid response assessment* 2010: UNEP/Earthprint.
15. Water, U., *Wastewater Management: A UN-Water Analytical Brief*. New York, 2015.
16. Connor, R., et al., *The united nations world water development report 2017. wastewater: the untapped resource*. The United Nations World Water Development Report, 2017.
17. Raschid-Sally, L. and P. Jayakody, *Drivers and characteristics of wastewater agriculture in developing countries: Results from a global assessment*. Vol. 127. 2009: IWMI.
18. Pitter, P., *Hydrochemie* 2009: Vydavatelství VŠCHT Praha.
19. Russell, D.L., *Practical wastewater treatment* 2019: John Wiley & Sons.
20. Fent, K., A.A. Weston, and D. Caminada, *Ecotoxicology of human pharmaceuticals*. Aquatic toxicology, 2006. **76**(2): p. 122-159.
21. Silva, B., et al., *Psychiatric pharmaceuticals as emerging contaminants in wastewater* 2015: Springer.
22. Ren, H. and X. Zhang, *High-risk Pollutants in Wastewater* 2019: Elsevier.
23. Esplugas, S., et al., *Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents*. Journal of hazardous materials, 2007. **149**(3): p. 631-642.

24. Bhandari, A., et al., *CONTAMINANTS OF EMERGING ENVIRONMENTAL CONCERN*. 2009.
25. Bloemen, H.J. and J. Burn, *Chemistry and Analysis of Volatile Organic Compounds in the Environment* 2012: Springer Netherlands.
26. Herrmann, A., *The Chemistry and Biology of Volatiles* 2011: Wiley.
27. Kováts, E., *Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil I: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone*. Helvetica Chimica Acta, 1958. **41**(7): p. 1915-1932.
28. Van den Dool, H., *A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography*. J. Chromatogr. A, 1963. **11**: p. 463-471.
29. Van der Oost, R., J. Beyer, and N.P. Vermeulen, *Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review*. Environmental toxicology and pharmacology, 2003. **13**(2): p. 57-149.
30. Cruz, S. and D. Barceló, *Personal care products in the aquatic environment* 2015: Springer.
31. Tran, N.H., M. Reinhard, and K.Y.-H. Gin, *Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review*. Water research, 2018. **133**: p. 182-207.
32. Tolls, J., et al., *Environmental safety aspects of personal care products-a European perspective*. Environmental toxicology and chemistry, 2009. **28**(12): p. 2485.
33. Nieto, A., et al., *Determination of personal care products in sewage sludge by pressurized liquid extraction and ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2009. **1216**(30): p. 5619-5625.
34. Zhao, X., et al., *Improving urban drainage systems to mitigate PPCPs pollution in surface water: A watershed perspective*. Journal of Hazardous Materials, 2021. **411**: p. 125047.
35. Wang, L. and K. Kannan, *Characteristic profiles of benzonphenone-3 and its derivatives in urine of children and adults from the United States and China*. Environmental science & technology, 2013. **47**(21): p. 12532-12538.
36. Moos, R.K., et al., *Rapid determination of nine parabens and seven other environmental phenols in urine samples of German children and adults*. International journal of hygiene and environmental health, 2014. **217**(8): p. 845-853.
37. García-Córcoles, M., et al., *Chromatographic methods for the determination of emerging contaminants in natural water and wastewater samples: a review*. Critical reviews in analytical chemistry, 2019. **49**(2): p. 160-186.
38. Moldoveanu, S.C. and V. David, *Modern Sample Preparation for Chromatography* 2014: Elsevier Science.
39. van Berlo, M., K.C.A. Luyben, and L.A. van der Wielen, *Poly (ethylene glycol)–salt aqueous two-phase systems with easily recyclable volatile salts*. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1998. **711**(1-2): p. 61-68.
40. Osloob, M. and A. Roosta, *Experimental study of choline chloride and K₂HPO₄ aqueous two-phase system, and its application in the partitioning of penicillin G*. Journal of Molecular Liquids, 2019. **279**: p. 171-176.
41. Iqbal, M., et al., *Aqueous two-phase system (ATPS): an overview and advances in its applications*. Biological procedures online, 2016. **18**(1): p. 1-18.
42. Albertsson, P.-Å., *Partition of proteins in liquid polymer–polymer two-phase systems*. Nature, 1958. **182**(4637): p. 709-711.

43. Freire, M.G., *Ionic-liquid-based aqueous biphasic systems* 2016: Springer.
44. Gutowski, K.E., et al., *Controlling the aqueous miscibility of ionic liquids: aqueous biphasic systems of water-miscible ionic liquids and water-structuring salts for recycle, metathesis, and separations*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(22): p. 6632-6633.
45. Farias, F.O., et al., *Designer solvent ability of alcohols in aqueous biphasic systems composed of deep eutectic solvents and potassium phosphate*. Separation and Purification Technology, 2018. **200**: p. 84-93.
46. Farias, F.O., et al., *Study of the pseudo-ternary aqueous two-phase systems of deep eutectic solvent (choline chloride: sugars)+ K₂HPO₄+ water*. Fluid Phase Equilibria, 2017. **448**: p. 143-151.
47. Farias, F.O., et al., *Is it possible to create ternary-like aqueous biphasic systems with deep eutectic solvents?* ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2017. **5**(10): p. 9402-9411.
48. Passos, H., et al., *Are aqueous biphasic systems composed of deep eutectic solvents ternary or quaternary systems?* ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2016. **4**(5): p. 2881-2886.
49. Burcio, O.N. and P. Lucci, *New Trends in Sample Preparation Techniques for Food Analysis* 2016: Nova Science Publishers, Incorporated.
50. Jeannot, M.A. and F.F. Cantwell, *Solvent microextraction into a single drop*. Analytical chemistry, 1996. **68**(13): p. 2236-2240.
51. Jeannot, M.A. and F.F. Cantwell, *Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle*. Analytical chemistry, 1997. **69**(2): p. 235-239.
52. Theis, A.L., et al., *Headspace solvent microextraction*. Analytical chemistry, 2001. **73**(23): p. 5651-5654.
53. Pedersen-Bjergaard, S. and K.E. Rasmussen, *Liquid– liquid– liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis*. Analytical chemistry, 1999. **71**(14): p. 2650-2656.
54. Pawliszyn, J., *Comprehensive Sampling and Sample Preparation: Analytical Techniques for Scientists* 2012: Elsevier.
55. Rezaee, M., et al., *Determination of organic compounds in water using dispersive liquid– liquid microextraction*. Journal of Chromatography A, 2006. **1116**(1-2): p. 1-9.
56. Majors, R.E., *Sample preparation fundamentals for chromatography*. Agilent Technologies, Mississauga, Canada, 2013.
57. Anastassiades, M., et al., *Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce*. Journal of AOAC international, 2003. **86**(2): p. 412-431.
58. Ścigalski, P. and P. Kosobucki, *Recent materials developed for dispersive solid phase extraction*. Molecules, 2020. **25**(21): p. 4869.
59. Mao, X., et al., *Dispersive solid-phase extraction using microporous metal-organic framework UiO-66: Improving the matrix compounds removal for assaying pesticide residues in organic and conventional vegetables*. Food Chemistry, 2021. **345**: p. 128807.
60. Faraji, M., Y. Yamini, and M. Gholami, *Recent advances and trends in applications of solid-phase extraction techniques in food and environmental analysis*. Chromatographia, 2019: p. 1-43.
61. Robinson, P., P. Dunnill, and M. Lilly, *The properties of magnetic supports in relation to immobilized enzyme reactors*. Biotechnology and Bioengineering, 1973. **15**(3): p. 603-606.

62. Poole, C.F., *Solid-Phase Extraction* 2019: Elsevier.
63. Boddula, R., M.I. Ahamed, and A.M. Asiri, *Applications of metal-organic frameworks and their derived materials* 2020: John Wiley & Sons.
64. Arthur, C.L. and J. Pawliszyn, *Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers*. *Analytical chemistry*, 1990. **62**(19): p. 2145-2148.
65. Baltussen, E., et al., *Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles*. *Journal of Microcolumn Separations*, 1999. **11**(10): p. 737-747.
66. Nogueira, J., *Novel sorption-based methodologies for static microextraction analysis: A review on SBSE and related techniques*. *Analytica Chimica Acta*, 2012. **757**: p. 1-10.
67. Poole, C.F., *Liquid-Phase Extraction* 2019: Elsevier.
68. Hirao, M., H. Sugimoto, and H. Ohno, *Preparation of novel room-temperature molten salts by neutralization of amines*. *Journal of the Electrochemical Society*, 2000. **147**(11): p. 4168.
69. Abbott, A.P., et al., *Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures*. *Chemical communications*, 2003(1): p. 70-71.
70. Jon, C.-S., L.-Y. Meng, and D. Li, *Recent review on carbon nanomaterials functionalized with ionic liquids in sample pretreatment application*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019. **120**: p. 115641.
71. Sitko, R., B. Zawisza, and E. Malicka, *Graphene as a new sorbent in analytical chemistry*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2013. **51**: p. 33-43.
72. Furukawa, H., et al., *The chemistry and applications of metal-organic frameworks*. *Science*, 2013. **341**(6149).
73. Bajer, T., et al., *Design of the Extraction Process for Characterization of Volatile Profile of Stem Wood by Solid-Phase Microextraction*. *Natural Product Communications*, 2019. **14**(5): p. 1934578X19842721.
74. Bajer, T., et al., *Volatile compounds fingerprinting of larch tree samples for Siberian and European larch distinction*. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2020. **78**(2): p. 393-402.
75. Gutiérrez-Serpa, A., et al., *Role of ionic liquids in composites in analytical sample preparation*. *Separations*, 2020. **7**(3): p. 37.
76. Šulc, J., et al., *A green miniaturized aqueous biphasic system prepared with cholinium chloride and a phosphate salt to extract and preconcentrate personal care products in wastewater samples*. *Journal of Chromatography A*, 2021. **1648**: p. 462219.

8 Seznam použitých zkratek

ABS	Vodné dvoufázové systémy
BP	Benzofenon
BP-3	Benzofenon-3
CE	Kapilární elektroforéza
CNT	Uhlíkové nanotrubicce
ČOV	Čistička odpadních vod
D- μ SPE	Mikroextrakce disperzní tuhou fází
DES	Hluboce eutektická rozpouštědla
DI-SDME	Přímého ponoření
DLLME	Disperzní mikroextrakce kapalnou fází
DVB/CAR/PDMS	Sorbentem divinylbenzen/karboxen/polydimethylsiloxan
EF	Obohacovací faktor
FID	Plamenově ionizační detektor
G	Grafen
GC	Plynové chromatografie
GC-MS	Spojení hmotnostní spektrometrie s plynovou
GO	Oxidem grafenu
HBA	Akceptorem vodíkové vazby
HBD	Donorem vodíkové vazby
HF-LPME	Mikroextrakce kapalnou fází pomocí dutého vlákna
HPLC-DAD	Vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s detekcí diodového pole
HS-SDME	V parním prostoru
HS-SPME	Mikroextrakce tuhou fází z parního prostoru
ChCl	Cholin chlorid
IL	Iontové kapaliny
LC-MS	Kapalinovou chromatografií
LC-MS/MS	Kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem
LLE	Extrakce kapalnou fází
LOD	Limit detekce
LOQ	Limit kvantifikace

MBC	3-(4-methylbenzylidene) camphor
m-D- μ SPE	Magneticky asistovaná mikroextrakce disperzní tuhou fází
MOF	Metalo-organické materiály
MWAE	Extrakce podporovaná mikrovlnným zářením
NoP	Celkový počet píků
OPLS	Ortogonální projekce do latentních struktur
OSN	Organizace spojených národů
PCP	Skupina látek produktů denní potřeby
PDMS	Polydimethylsiloxan
RI	Retenčních indexů
RSD	Relativní směrodatná odchylka
SBSE	Sorpční extrakce míchadlem
SBU	Sekundární stavební jednotky
SDME	Mikroextrakce jednou kapkou
SPE	Extrakce tuhou fází
SPME	Mikroextrakce tuhou fází
TCD	Teplotně vodivostní detektor
TPA	Celkovou plochu píků
USAE	Extrakce podporovaná ultrazvukem
VOC	Těkavé organické látky