

UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Toxicita směsí organických látek

Doktorská disertační práce

Praha 2008

Josef Reitmajer

Tato práce byla vypracována na katedře analytické chemie PřF UK v Praze a v oddělení toxikologické analýzy Státního zdravotního ústavu v Praze v letech 2000 – 2008. Prohlašuji, že jsem pracoval samostatně a veškerou použitou literaturu řádně citoval. Tato práce ani její část nebyla použita k obhájení jiného titulu.

V Praze dne 22. 4. 2008

Děkuji svým školitelům prof. RNDr. Ladislavu Feltlovi, CSc. a doc. RNDr. Miloni Tichému, DrSc. za odborné vedení, podporu, užitečné rady a nezměrnou trpělivost.

Zvláštní poděkování patří mé rodině.

ABSTRAKT

Cílem práce bylo otestovat aditivitu chemických látek v rozdělovacím procesu mezi dvě fáze a porovnat koeficienty distribuce chemikálií K_{mix} pro různé molární zlomky směsi s indexem akutní toxicity EC50 této směsi pro oligochaeta *Tubifex tubifex*. Byly studovány směsi průmyslových rozpouštědel: benzenu, ethanolu, anilinu a nitrobenzenu. Pro stanovení rozdělovacího koeficientu byla použita plynová chromatografie ve spojení s mikroextrakcí tuhou fází.

Odchylky od aditivity byly nalezeny u rozdělovacích koeficientů všech sledovaných směsí. Nejvýraznější v případě benzenu i ethanolu ve směsi benzen – ethanol, nejmenší změny byly zaznamenány ve směsi ethanol – anilin. Ze získaných výsledků vyplývá, že rozdělovací koeficient K_{mix} se u měřených směsí chemikálií mění podobně jako akutní toxicita. Jednoznačně je tomu v případě K_{mix} směsi benzen – ethanol. Lze předpokládat, že tento parametr je použitelným deskriptorem změn chování akutní toxicity pro směsi látek.

V druhé části práce bylo cílem zjistit, jak se rozdělení chemických látek mezi kapalnou a plynnou fází mění s koncentrací a složením směsi. Změny v rozdělení byly testovány jako odchylky normalizované sumy koncentrací v plynné fázi $\Sigma c_g'$ od aditivity. Byly nalezeny změny v rozdělení složek směsí mezi kapalnou a plynnou fází. Největší odchylky byly nalezeny u směsí benzen – ethanol a benzen – anilin. Žádné odchylky nebyly naopak nalezeny u směsi anilin – nitrobenzen. Závislost rozdělovacího koeficientu na složení a koncentraci roztoků jednotlivých směsí nebyla nalezena.

ABSTRACT

The aim of this study was to test additivity of chemical compounds in distribution process between two phases and to compare distribution coefficients K_{mix} for different molar ratio of mixture with acute toxicity index EC50 gained on oligochaeta *Tubifex tubifex*. Mixtures of organic solvents ethanol, benzene, aniline and nitrobenzene were studied. For determination of distribution coefficient were used gas chromatography in connection with solid phase microextraction.

Deviations from additivity were found for distribution coefficients of all tested mixtures. The most significant deviation exhibited benzene – ethanol mixture. The lowest deviations were observed for mixture ethanol – aniline. The results obtained indicate that the partition coefficient K_{mix} behave similarly to acute toxicity. Definitely it is for benzene – ethanol mixture. It is possible to suppose that this parameter might be used for estimation of changes in acute toxicity of mixtures.

The aim of the second part of the thesis was to study how distribution of chemicals changes with concentration and composition of mixture. Deviations in distribution were tested as normalized sum of concentrations at gaseous phase $\Sigma c_g'$ from additivity. Variations in distribution of mixture components between gaseous and aqueous phase were found. The highest deviations were found for benzene – ethanol and benzene – aniline mixtures. No deviation was found for aniline – nitrobenzene mixture. Dependences of distribution coefficient on composition and concentration of solutions of mixtures were not observed.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. CÍLE	8
3. TEORETICKÁ ČÁST	9
3.1. QSAR, PREDIKCE AKUTNÍ TOXICITY, ROZDĚLOVACÍ KOEFICIENTY	9
3.1.1. QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships)	9
3.1.2. Alternativní metoda testování akutní toxicity zástavou pohybu oligochaeta <i>Tubifex tubifex</i>	13
3.2. ROZDĚLOVACÍ KOEFICIENTY	15
3.2.1. Rozdělovací koeficient olej – vzduch	15
3.2.2. Rozdělení kapalná-plynná fáze binárních směsí	15
3.2.3. Rozdělovací koeficient n-oktanol – voda	16
3.2.4. Rozdělovací koeficient vodný roztok – plynná fáze	16
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	17
4.1. METODIKA	17
4.1.1. Přístroje a pomůcky	17
4.1.2. Vlastnosti použitých látek	17
4.2. STANOVENÍ ROZDĚLOVACÍHO KOEFICIENTU	19
4.2.1. Plynová chromatografie	19
4.2.2. Mikroextrakce tuhou fází	21
4.3. POSTUP PRÁCE	29
4.3.1. Příprava vzorků	29
4.3.2. Ustavení rovnováhy	29
4.3.3. Dávkování	29
4.4. VÝPOČTY	30
4.4.1. R - Molární zlomek, normalizovaný molární zlomek	30
4.4.2. Koncentrace analytu v plynné a kapalné fázi v rovnováze, distribuční koeficienty, jejich normalizace	30
4.4.3. Aditivita	31
4.4.4. Statistické hodnocení	32

5.	VÝSLEDKY A DISKUSE	34
5.1.	VÝSLEDKY MĚŘENÍ – POROVNÁNÍ K_{MIX} A $EC50'$	34
5.1.1.	Benzen – ethanol	35
5.1.2.	Benzen – anilin	42
5.1.3.	Benzen – nitrobenzen	49
5.1.4.	Anilin – nitrobenzen	56
5.1.5.	Ethanol – nitrobenzen	63
5.1.6.	Ethanol – anilin	69
5.2.	VÝSLEDKY MĚŘENÍ – TESTOVÁNÍ ADITIVITY $\Sigma c_g'$ ZA KONSTANTNÍ KONCENTRACE ROZTOKŮ	76
5.2.1.	Benzen – ethanol	77
5.2.2.	Benzen – anilin	84
5.2.3.	Benzen – nitrobenzen	91
5.2.4.	Ethanol – anilin	98
5.2.5.	Anilin – nitrobenzen	105
6.	ZÁVĚR	112
7.	SOUHRN.....	113
8.	SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	114
9.	PUBLIKAČNÍ ČINNOST	116
10.	POUŽITÁ LITERATURA	118

1. ÚVOD

Každý člověk i jeho životní prostředí jsou exponováni látkám, které unikají do životního prostředí. Nelze najít oblast lidského života, která by nebyla ovlivněna jejich působením. Jejich vliv je jak pozitivní, tak i negativní. Počet těchto látek se neustále zvyšuje a expozice jedné látky v podstatě neexistuje. Prostor, včetně člověka, je vystaveno více chemickým látkám najednou. Je nutné sledovat vliv jednotlivých látek i směsí na přírodu i člověka samotného.

Za měřítko nebezpečnosti směsí chemikálií se většinou považuje poměrný součet velikosti příslušného toxického účinku jednotlivých látek, nejčastěji nějakého indexu toxicity. Současné působení dvou nebo více látek však může měnit toxicitu každé chemikálie kvantitativně i kvalitativně [1].

Otestovat všechny známé i nově vznikající látky, natož jejich směsi, klasickými toxikologickými metodami vzhledem k časové náročnosti i potřebnému množství zvířat není možné. Stejně tak je, vzhledem k množství nových látek, obtížné získávání dalších znalostí o fyzikálně-chemických vlastnostech těchto látek. To je jeden z důvodů, proč jsou hledány nové alternativní metody, které by umožnily alespoň orientační odhad nebezpečnosti látky nebo směsi látek.

Ve své práci jsem se zabýval možnostmi predikce akutní toxicity binárních směsí látek pomocí fyzikálně-chemických vlastností těchto směsí. Predikční model, který používám, je vztah mezi koncentrací látek v plynné fázi nad kapalnou fází binární směsi a hodnotami akutní toxicity této směsi pro oligochaeta *Tubifex tubifex*.

2. CÍLE

Cílem práce je využití technik predikční toxikologie pro odhad akutní toxicity binárních směsí chemikálií. Obsahem práce je získání údajů o fyzikálně chemických vlastnostech látek a jejich binárních směsí, které by odrážely jejich toxický účinek. Práce byla provedena na směsích čtyř organických látek: benzenu, ethanolu, anilinu a nitrobenzenu.

Cíle byly následující:

- pokusit se najít vhodnou fyzikálně chemickou vlastnost binárních směsí, která svou hodnotu ve směsi stejných sloučenin mění se změnou poměru složek stejným způsobem jako ji mění akutní toxicita
- vyvinout metodu stanovení koncentrace látek v plynné fázi nad roztokem pomocí metody SPME ve spojení s plynovou chromatografií
- změřit rozdělovací koeficienty vodný roztok – plynná fáze u směsí, u kterých již byla změřena akutní toxicita
- porovnat ideální a neideální chování složek směsí v rozdělení kapalina – pára
- porovnat změny rozdělení kapalina – pára a akutní toxicity se složením směsí
- zjistit, zda a jak se rozdělení mění s koncentrací a složením směsí.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1. QSAR, PREDIKCE AKUTNÍ TOXICITY, ROZDĚLOVACÍ KOEFICIENTY

V současné době jsme stále více vystavováni většímu množství nebezpečných látek, které unikají do životního prostředí jako produkty lidské činnosti. Je proto nutné sledovat jejich škodlivé účinky na přírodu a člověka samotného [2,3].

Otestovat všechny dosud známé a popsané chemické látky není možné. To je také jeden z důvodů, proč se hledají nové alternativní metody, které by ve větším měřítku a rychle umožnily alespoň jednoduchý orientační odhad nebezpečnosti látky [4,5].

Velikosti účinků jednotlivých látek byly dlouhou dobu sledovány samostatně. Častějším jevem je však chemická expozice kombinovaná [6].

Předpovědi a odhadem velikosti toxikologického účinku na životní prostředí se zabývá predikční toxikologie. Predikční model, který využívám ve své práci, je založen na vztahu mezi hodnotami koncentrace látek v plynné fázi nad roztokem binární směsi a hodnotami akutní toxicity této směsi. Při popisu tohoto predikčního modelu byl ke stanovení akutní toxicity využit test zástavy pohybu oligochaeta *Tubifex tubifex* [7-11], ke stanovení koncentrace v plynné fázi nad kapalnou fází plynová chromatografie ve spojení s mikroextrakcí tuhou fází (SPME) [12-14]. Hodnoty EC50 jednotlivých látek i směsí v této práci byly převzaty z publikovaných prací [11,15].

3.1.1 QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships)

Pro velikost toxicity látek je významná chemická struktura jejich molekul a s ní spojené vlastnosti látek. Vývoj výpočetní techniky a zakládání datových bank o toxických účincích látek umožňuje využití znalostí o chemické struktuře látek pro orientační odhad nežádoucích a toxických účinností nových látek pomocí metod analýzy QSAR [4,16].

3.1.1.1. Základní pojmy

Předmětem analýzy QSAR je zobecnění informace o vztazích mezi chemickou strukturou a biologickými vlastnostmi jednotlivých cizorodých látek. Pro jejich vyjádření se používá formy matematických výrazů (rov. 3.1.) [4], které je možné použít pro odhad účinností nových, dosud nezkoumaných látek.

$$BA_{ij} = f(X_i) \quad (3.1.)$$

Biologickou účinností (BA_{ij}) je v analýze QSAR velikost (kvantita) biologického účinku (j), kterou látka (i) za definovaných podmínek vyvolá. Tato velikost je vyjádřena číslem nebo alespoň údajem účinná – neúčinná. Výraz účinek představuje kvalitu interakce mezi látkou a biologickým systémem, účinnost jeho kvantitu. Rozdíly v účincích a účinnostech toxikologických látek na stejném organismu jsou způsobeny rozdíly v chemické struktuře jejich molekul.

Vlastnostmi látky (X_i) jsou zde myšleny především ty, které souvisejí s chemickou konstitucí sloučeniny. Pro analýzu QSAR lze strukturu látky popsat např. počtem atomů a jejich charakterem, topologickými indexy, fyzikálními, chemickými a fyzikálně-chemickými vlastnostmi (např. rozpustnost, rozdělovací koeficient, teplota tání, elektronová hustota, reaktivita skupiny atomů, atd.) [4].

3.1.1.2. Historický vývoj metody QSAR

Počátky výzkumu vztahů mezi strukturou látek a jejich toxickými účinky jsou staré více než sto třicet let.

První práce souvisí se snahou nalézt způsob rychlého odhadu nebezpečnosti látek. Již v roce 1869 byla postulována rovnice (3.1.) v článku Crum-Browna a Fräsera [17]. V téže roce Richardson pozoroval, že narkotická účinnost alifatických uhlovodíků vzrůstá s rostoucím počtem uhlovodíkových atomů, tj. s rostoucí relativní molekulovou hmotností [18]. Richet roku 1893 uzavřel své studie toxických účinků různých alkoholů, etherů, aldehydů a ketonů tím, že velikost jejich účinků je nepřímo úměrná jejich rozpustnosti ve vodě [19].

Overton [20] a Meyer [21] na přelomu století nezávisle na sobě pozorovali, že většina organických látek přechází při narkotickém účinku přes membrány buněk a výsledná narkotická účinnost koreluje s rozdělovacím koeficientem látek mezi olej a vodu. Je to první publikovaná práce o korelaci mezi rozdělovacími koeficienty a biologickou účinností.

Lineární korelaci mezi narkotickou účinností a povrchovým napětím látek našel v roce 1904 Traube [22]. Ve stejné době ukázal Fühner, že koncentrace látky, která vyvolá stejnou biologickou účinnost, se v sérii látek mění s geometrickou řadou vzhledem k počtu atomů uhlíku v molekule [23]. Moore publikoval v roce 1917 zjištění, že v sérii různých látek toxicita jejich par pro hmyz koreluje přímo úměrně s jejich těkavostí a bodem varu [24].

Představ termodynamiky použil jako první Ferguson v roce 1939. Konstatoval, že stejně velký účinek mají látky při stejném chemickém potenciálu v místě účinku. Tuto

skutečnost vysvětlil tím, že odpověď organismu je způsobena spíše pouhou přítomností cizorodé chemické látky v nevodné fázi biologického systému, než specifickými a charakteristickými rysy struktury látek [25].

Z dnešního pohledu je však nutné si uvědomit, že i když se při interakci mezi místem účinku a molekulou xenobiotika uplatňuje několik typů slabých mezimolekulových interakcí, uvnitř série látek se často mění pouze jeden typ, zatímco ostatní zůstávají konstantní. Mohlo by tedy jít o reakce zcela specifické. Podobně se ukázalo, že biologická účinnost v řadě látek závisí na jejich lipofilitě, avšak síla interakce molekuly látky s místem účinku může být určena například tvorbou vodíkových vazeb nebo elektrostatickými silami [26].

Na základě Fergusonových prací byly v roce 1951 McGovanem navrženy rovnice pro odhad toxicity par rozpouštědel. První pokusy odhadnout pomocí chemické struktury látek jejich nejvyšší přípustnou koncentraci pocházejí od téhož autora [27,28]. Parametrem chemické struktury mu při tom byla polarizovatelnost látky. Podobný pokus provedla Ljublina a její spolupracovníci, navrhla odhadovat NPK pomocí vztahu s tlakem nasycených par rozpouštědla a molárním objemem [29].

Bruice, Kharasch a Winzler publikovali empirický matematický model pro analýzu změn účinností v sérii látek, majících účinek podobný thyroxinu, v souvislosti se změnou jejich substituentů. Účinnost si představovali jako součet příspěvků jednotlivých částí molekuly látky, přičemž velikosti příspěvků byly počítány statistickou metodou [30].

Od počátku šedesátých let se objevují rozsáhlé studie, ve kterých autoři používali rozdělovací koeficienty [31,32]. Počala se vyvíjet metodologie analýzy QSAR, která využívala empirických i teoretických pouček fyzikální i organické chemie, korelační analýzu, ale i další metody matematické statistiky, např. shlukovou nebo faktorovou analýzu, metodu rozpoznání obrazců (pattern recognition) a výpočty kvantové chemie [4,31].

S rozvojem počítačového zpracování se objevuje obrovské množství publikací, například na vědeckém webu sciencedirect.com se po zadání hesla QSAR objeví přes dva tisíce odkazů na jednotlivé publikace [33]. Jsou prováděny i matematické modely převodu dat ze zvířat na člověka [34]. Mnoho prací souvisí s biologickým působením, zejména karcinogenitou a mutagenitou [35]. Často je zkoumáno působení přímo v buněčném prostředí [36]. Jsou porovnávány různé QSAR modely a hledáno vysvětlení jejich rozdílů pro stejné či podobné skupiny látek [37]. Mnoho prací se zabývá polutanty v životním prostředí [37-39] a vlivem ropných látek a jejich produktů na veškeré složky biosféry [40,41]. Jako fyzikálně chemický parametr je často využíván rozdělovací koeficient

[42,43]. Pozornost je obrácena rovněž k biologické dostupnosti látek a membránovým dějům [44,45].

3.1.1.3. Akutní toxicita směsí chemikálií - modely odhadu

Základní údaje o toxicitě, karcinogenitě a dalších účincích jednotlivých látek pro různé organismy jsou většinou známy [46], v okolním prostředí se však setkáváme převážně s vlivy různých chemických směsí, o jejichž působení víme jen velmi málo.

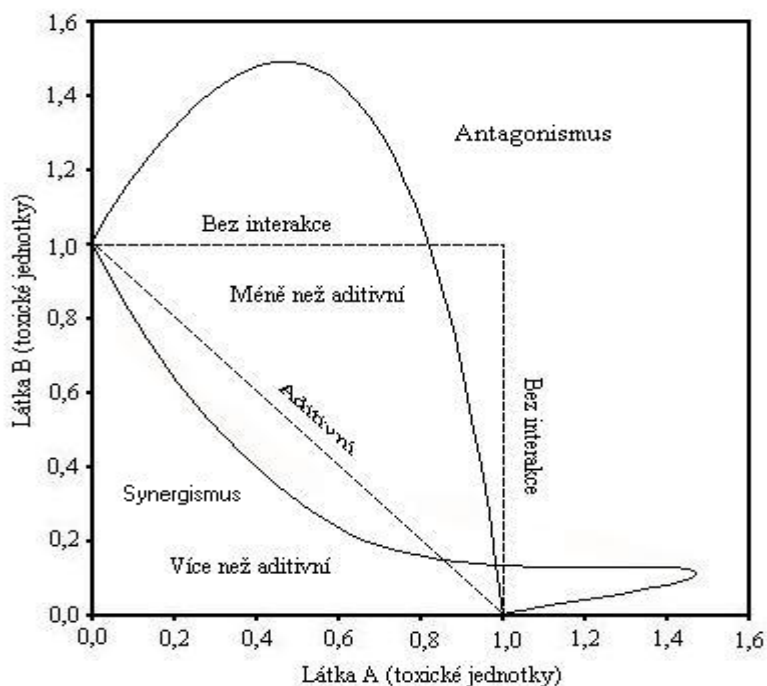
Informace o toxicitě chemických sloučenin jsou získávány testováním jednotlivých látek za laboratorních podmínek. Systematické testování za použití klasických toxikologických metod se však jeví nepraktické vzhledem k stále narůstajícímu počtu chemických látek. Lze proto použít odhadů pomocí predikčních modelů, např. QSAR, kinetické simulace, PBPK/PD (physiologically based pharmacokinetic / pharmacodynamic modelling) [5]. Kvantitativní modely pro odhad směsné toxicity jsou používány v toxikologii i farmakologii [43,47-52].

Základním příspěvkem ke klasifikaci společného toxického účinku směsí chemikálií byla studie Hewletta a Placketta, kteří vytvořili, popsali a diskutovali matematické modely závislosti dávka – účinek pro směsi, jež mají různý účinek, ať už se jedná o jednoduché či složené, závislé či nezávislé působení [48-50,53]. Touto cestou pokračuje několik autorů [54]. Většinou jsou používány modely založené na znalosti vlastností jejich jednotlivých složek, vycházejí z předpokladu, že látky se z toxikologického hlediska neovlivňují a jejich účinky se tedy sčítají [55]. Tyto metody lze použít jako hrubý odhad, často však neodpovídají realitě, v mnoha případech lze nalézt vzájemné ovlivňování různých látek vedoucí ke zvýšení nebo snížení účinků [12,36,56].

V roce 1926 farmakologové Loewe a Muischnek publikovali studii, jež významně přispěla k hypotéze o společném účinku léčiv. Pomocí isobologramů (obr. 3.1.) ilustrovali závislost účinnosti na složení směsi [51].

Isobolografická analýza používá obdélníkových koordinát, na kterých je uvedena kombinace léčiv. Koordináty definují jak dávku (koncentraci), tak poměr obou léčiv v jejich binární směsi. Metoda isobologramů popisuje průběh závislosti biologické aktivity na složení směsi a ukazuje typ společného účinku. Tato metoda se ukázala užitečnou pro klasifikaci společného účinku chemických látek [57,58]. Nejedná se ale o funkční závislost, kterou lze v analýze QSAR použít. Koncentrace léčiva je vyjádřena jako funkce koncentrace druhé látky a postrádá tak fyzikální význam závislosti. Jako vhodnější způsob vyjádření velikosti účinku dvou látek se jeví závislost biologické aktivity EC₅₀ na molárním zlomku složek směsi [8,59].

Obr. 3.1. Isobologram. Možnosti průběhu vzájemného působení dvou látek



V roce 1981 H. Könnemann ve svém článku [60] popisuje využití modelů QSAR při průkazu podobných mechanismů účinku v sérii podobných látek. Poukázal na to, že společný účinek směsi, stanovený jako akutní toxicita, je aditivní pro všechny koncentrace, jestliže jde o látky vyhovující společné rovnici QSAR. Jak ukázal na homologické řadě látek, toxicita dobře koreluje s fyzikálně - chemickými vlastnostmi jako je např. rozdělovací koeficient mezi n-oktanol a vodu. V následujících letech této teorie bylo využito ještě několika autory k plánování experimentů a k výběru chemikálií pro testování mechanismů účinků těchto látek ve směsi [61,62]. Nicméně ji nelze použít pro směsi dvou a více látek z různých homologických řad.

3.1.2. Alternativní metoda testování akutní toxicity zástavou pohybu oligochaeta *Tubifex tubifex*

Většina toxikologických dat, získaných při určování nebezpečnosti chemikálií pro člověka, pochází z testování na zvířatech. Tyto metody jsou však velice náročné na čas, peníze i laboratorní zvířata. Přenos výsledků z těchto pokusů na člověka je obvykle dost problematický díky rozdílům v citlivosti jednotlivých živočišných druhů k chemickým látkám. Přesto je zvíře, jako součást živé přírody, pro tyto experimenty modelem stále nejvhodnějším [63,64]. Hledají se proto alternativní metody, které by nahradily, popřípadě alespoň omezily použití tradičních metod a pokusných zvířat. Informace získané pomocí

alternativních metod musí být adekvátní informacím získaným pokusy na obratlovcích [65].

Působení různých látek můžeme zkoumat i na poměrně jednoduchých živých systémech *in vitro* [66]. Jednou z takových metod je alternativní test na oligochaeta *Tubifex tubifex* (Nitěnka větší) [7].

Nitěnky byly požívány pro testování toxicity odpadních vod [67] a akutní toxicity [68] již v padesátých letech, později byly použity ke stanovení toxicity pro zásadní práce, jež vedly k predikčním metodám typu QSAR [31,69]. V nedávné době, jak tomu nasvědčuje i zvyšující se počet publikací, došlo ke znovu oživení zájmu o testování akutní toxicity na nitěnkách (*Tubifex tubifex*) [70-72]. Předností tohoto testu jsou jednoduchost, rychlost, reprodukovatelnost a též finanční nenáročnost.

Test je založen na sledování souborů čítajících šest nitěnek, jsou zaznamenávány počty nehybných jedinců po ponoření do roztoku zkoumané látky [7,11]. Pro výpočet je použit původní program založený na statistickém vyhodnocení podle Weilové [73]. Jako deskriptor složení směsi byl zvolen molární zlomek R jedné z látek ve směsi [8]. Přesný popis testu je v citovaných pracích.

Výsledky získané testováním jednotlivých látek byly porovnávány s akutní toxicitou pro jiné živočišné druhy (myši, ryba *Pimephales promelas*). Byl použit soubor alifatických alkoholů, pomocí analýzy QSAR byly popsány vztahy mezi akutní toxicitou testovanou na těchto živočiších. Byla nalezena výrazná korelace výsledků, použití nitěnek pro testování akutní toxicity tedy dává srovnatelné výsledky jako testy na myších a rybách. Již dříve byla na souboru alkoholů prokázána korelace mezi EC50 stanovenou zástavou pohybu *Tubifex tubifex* a IGC50 (Inhibition Growth Concentration – koncentrace inhibující růst kolonie) stanovenou na prvocích *Tetrahymena pyriformis* [9,74-76].

3.2. ROZDĚLOVACÍ KOEFICIENTY

Dříve se pro popis chování fyzikálně chemických vlastností látek používaly i jiné deskriptory, například složení rovnovážných směsí, body varu, molekulová hmotnost, případně parciální tlaky nasycených par jednotlivých složek [27,28,77-79].

Na pracovišti, kde vznikala tato práce, ale i v současném výzkumu na jiných pracovištích jsou pro potřeby odhadů toxicity používána jiná rozdělení sledovaných látek, včetně SPE kolon [52] a SPME vláken [80]. Stručný přehled metod používaných na Státním zdravotním ústavu v Praze a Přírodovědecké fakultě UK je v následujících bodech.

3.2.1. Rozdělovací koeficient olej – vzduch

V rámci výzkumu bylo snahou najít takovou fyzikálně–chemickou vlastnost, jejíž závislost na složení směsi by byla srovnatelná s chováním akutní toxicity této směsi. V první řadě byly zjišťovány parametry pro jednotlivé látky.

Byl zkoumán rozdělovací koeficient olej – vzduch na několika homologických řadách uhlovodíků [11,81,82]. Jako stacionární fáze byl použit olivový olej zakotvený na nosiči. Ze změřených retenčních časů byl vypočten rozdělovací koeficient olej – vzduch, diferenciální rozpouštěcí entalpie a standardní změny entropie při rozpouštění. Tyto hodnoty byly korelovány s akutní toxicitou jednotlivých látek. Korelace byly těsné pro jednotlivé homologické řady, při korelaci širšího vzorku látek se míra korelace snižovala.

3.2.2. Rozdělení kapalná-plynná fáze binárních směsí

Další zkoumanou veličinou byl rozdělovací koeficient (P_i) mezi kapalnou a plynnou fází binární směsi dvou čistých organických látek [11]. Stanoven byl výpočtem z molárních zlomků složek směsi v kapalně ($R_{l(i)}$) a plynné fázi ($R_{g(i)}$), které byly získány plynovou chromatografií. Výpočet byl prováděn ze vztahu

$$P_i = R_{l(i)} / R_{g(i)} \quad (3.2.)$$

Vypočítané hodnoty pak byly vyneseny proti molárnímu zlomku v kapalně fázi a porovnávány s výsledky stanovení EC50.

Získaná data naznačují, že čím větší je odchylka součtu koncentrací v plynné fázi od aditivity, tím větší je odchylka akutní toxicity směsi. Tento parametr poskytuje

informaci, zda akutní toxicita směsi bude aditivní, neaditivní nebo se projeví smíšená interakce. Nepostihne však již, zda se jedná o inhibici či potenciaci [59,83,84].

3.2.3. Rozdělovací koeficient n-oktanol – voda

Rozdělovací koeficient n-oktanol – voda (K_{ow}) je v současnosti nejpoužívanějším deskriptorem pro popis biologických, biochemických a toxických účinků látek [4,41,62,85]. Je běžně uváděným důležitým parametrem pro všechny organické látky. Pro předpověď velikostí účinků nových látek však není univerzální, v některých případech nelze na jeho základě na změny toxicity či jiných biologických parametrů usuzovat [86].

Na Státním zdravotním ústavu byly studovány vztahy mezi rozdělovacím koeficientem mezi n-oktanol a vodu binárních směsí benzen-ethanol a benzen-anilin. Rozdělovací koeficient byl měřen pro různé molární zlomky benzenu a různé celkové koncentrace složek ve směsích. Byly zjištěny statisticky významné odchylky v hodnotách K_{ow} benzenu a anilinu mezi směsí a čistou látkou. Změny K_{ow} byly použity k výkladu změn akutní toxicity zkoumaných směsí [56]. Tyto práce v současnosti dále pokračují.

3.2.4. Rozdělovací koeficient vodný roztok – plynná fáze

V této práci byla jako vhodný deskriptor fyzikálně-chemických vlastností vybrána závislost složení rovnovážné plynné fáze nad vodným roztokem směsi dvou organických látek v závislosti na složení kapalné fáze. Ke stanovení koncentrace látky v rovnovážné plynné fázi byla použita SPME metoda zakoncentrování vzorku ve spojení s GC-FID. Podmínky stanovení analytů v plynné fázi plynovou chromatografií zajišťovaly přiblížení podmínkám testování akutní toxicity, nízké koncentrace látek ve vodném prostředí. Velmi nízké koncentrace látek v plynné fázi vedly k využití metody SPME.

Mikroextrakce tuhou fází (SPME – Solid Phase Micro Extraction) je jednoduchá a účinná sorpční a desorpční technika zakoncentrování analytu, která nepotřebuje rozpouštědla nebo komplikované aparatury. Metodou SPME se příprava vzorku výrazně zrychluje a není náročná ani na vlastní laboratorní práci, vyžaduje malá množství vzorku a nejsou zapotřebí žádná organická rozpouštědla [87,88]. Je široce používána v chemii životního prostředí, zvláště při analýzách polutantů v environmentálních matricích [89]. Popis metody včetně teoretického základu SPME je uveden dále.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. METODIKA

4.1.1. Přístroje a pomůcky

- Plynový chromatograf UNICAM PU 4600
- Digitální regulátor tlaku, FID detektor
- Kapilární kolona SUPELCO SPB – 20, 15 m x 0,25 mm; s tloušťkou filmu 1 μ m, fáze 20 % fenyl – 80 % dimethylsiloxan
- Počítač, vyhodnocovací program Chromatography Station For Windows verze 1.7 DLL, Data Apex Ltd.
- stopky
- mikrostřikačky Hamilton o objemu 1, 5, 10, 50, 100 μ l
- digitální pipety Finntips
- lahve 300 ml s pryžovým uzávěrem a teflonovým septem
- odměrné lahve 10 ml a 100 ml

4.1.2. Vlastnosti použitých látek

V práci byly použity benzen, anilin, ethanol a nitrobenzen. Vlastnosti těchto látek jsou uvedeny v tab. 4.1. [46,90,91], toxické účinky jednotlivých látek jsou shrnuty níže [46,92-94]. Čistota všech chemikálií byla kontrolována plynovou chromatografií.

Pro přípravu pracovních roztoků byla použita redestilovaná voda. Mezi jednotlivými měřeními byly látky skladovány v ledničce, z důvodu těkavosti. Při práci bylo nutno manipulovat s látkami opatrně a dodržovat bezpečnostní opatření.

Tab. 4.1. Vlastnosti použitých sloučenin

		benzen	ethanol	anilin	nitrobenzen
CAS		71-43-2	64-17-5	62-53-3	98-95-3
rozpuštnost (H ₂ O)	25 °C [g / l]	1,79	neomezeně mísitelný	36	2,09
log o / w		2,13	-0,31	0,90	1,85
tlak nasycených par	25 °C [mm Hg]	95	59,6	0,49	0,245
bod tání	[°C]	5,53	- 114,5	- 5,98	5,76
bod varu	[°C]	80,2	78,5	182,2	210,8
hustota	20 °C [g / l]	0,879	0,789	1,021	1,204
EC50 (<i>Tubifex tubifex</i>)	[mol/l]	0,0225	0,842	0,0424	0,0044
K _H	bezrozm.	0,228	2,22 · 10 ⁻⁴	7,78 · 10 ⁻⁵	9,47 · 10 ⁻³
výrobce, čistota		Lachema a.s. p. a	Lachema a.s. 96 %	Lancaster 99+ %	Aldrich 99+ %
molární hmotnost	[g/mol]	78,12	46,07	93,13	123,11

4.1.2.1. Benzen C₆H₆

Základní člen řady aromatických uhlovodíků. Bezbarvá, velmi těkavá, hořlavá kapalina charakteristického zápachu s parami těžšími vzduchu. Ve směsi se vzduchem (2,1- 6,0 %) tvoří výbušné směsi. Do organismu vstupuje převážně plicemi, méně kůží. V organismu je cca ze 30 % biotransformován na fenol a další deriváty. Při akutní intoxikaci nastává hlavně útlum centrálního nervového systému, projevující se narkotickými účinky (opilost, nejistá chůze, závrať). Ve vysokých koncentracích nastává rychlé bezvědomí až smrt. Při chronických otravách dochází k poškození kostní dřene spojené s poruchami krvetvorby, je podezřelý karcinogen.

4.1.2.2. Ethanol C₂H₅OH

Bezbarvá, čirá kapalina, příjemné chuti a zápachu. Technické produkty jsou denaturovány pyridinovými basemi, benzenem, toluenem, methanolem, etherem a dalšími chemikáliemi. Technický ethanol vyráběný v petrochemickém průmyslu může být znečištěn řadou škodlivých látek (kondenzované aromatické uhlovodíky). Akutní toxická dávka per os je u dospělých 6 až 8 g/kg tělesné hmotnosti, u dětí asi 3 g/kg. Při požití se vstřebává žaludeční sliznicí a dostává se do krve. Ethanol je psychotropní látka, působící na centrální nervový systém, poškozuje cévy, srdeční sval, játra. Při těžkých intoxikacích může dojít ve stavu hluboké narkózy k zástavě dechu.

V reakci na vdechování par jsou výrazné individuální rozdíly. Vyšší koncentrace vedou k ospalosti, dráždění očí a dýchacích cest. Kůži ethanol odtučňuje, podobně jako další rozpouštědla. U člověka transdermální expozice není významná, u vodních organismů je ale účinku vystaveno celé tělo.

4.1.2.3. Anilin $C_6H_5NH_2$

Anilin při akutní otravě působí na centrální nervovou soustavu a na hemoglobin, dochází k methemoglobinové cyanóze. Přímý účinek je převážně excitační, útlum souvisí s nedostatkem kyslíku. Těžší otrava způsobuje bezvědomí, nepravidelnost tepu, křeče a poruchy dýchání. Hlavní nebezpečí je při požití, dobře se vstřebává i kůží. U lidí se uvádí jako problematická společná expozice s ethanolem. Působí dráždivě na kůži.

Rozsah následků chronického působení je široký, hlavně vliv na hemoglobin, játra, ledviny, trávicí soustavu a nervovou soustavu.

4.1.2.4. Nitrobenzen $C_6H_5NO_2$

Nažloutlá, čirá kapalina, nepříjemného zápachu. Je vysoce toxický, působí na hemoglobin a centrální nervovou soustavu. Akutní otrava se projevuje cyanózou, posléze se dostavuje třes, závratě, poruchy vědomí, křeče. Subakutní a chronické působení je podobné akutnímu. Působí dráždivě, senzibilizuje kůži.

4.2. STANOVENÍ ROZDĚLOVACÍHO KOEFICIENTU

4.2.1. Plynová chromatografie

Pro stanovení obsahu chemikálií v plynné fázi nad vodným roztokem jejich směsí byla použita plynová chromatografie [95-97] ve spojení s mikroextrakcí tuhou fází [98,99]. Použité chromatografické zařízení je popsáno v odstavci 4.1.1. Mikroextrakci tuhou fází je věnována samostatná kapitola.

4.2.1.1. Chromatografické parametry

Při měření byl použit jako nosný plyn vodík, jako pomocné plyny dusík a syntetický vzduch čistoty 4.0, odebírané z tlakových lahví. Přetlak na koloně vzhledem k atmosférickému tlaku byl 25 kPa.

Teplota injektoru byla při všech analýzách 250 °C. Teplota kolony byla v rozmezí 120 – 160 °C podle stanovovaného analytu, v závislosti na bodu varu. Teplota detektoru byla při všech analýzách stejná, 200 °C.

4.2.1.2. Detekční limit, kvantifikační limit

Možnost stanovení všech použitých látek je omezena rozpustností ve vodě a limitem detekce plynového chromatografu. Hodnoty rozpustnosti jsou uvedeny v tab. 4.1. Ethanol je s vodou neomezeně mísitelný, benzen, anilin a nitrobenzen jsou ale rozpustné jen velmi málo. S teplotou se rozpustnost těchto látek zvyšuje [100]. Rozpustnost látek ve směsi se mění v závislosti na složení směsi, mírně se zvětšuje například s rostoucí koncentrací ethanolu v roztoku [101]. Pro přesnější popis tohoto chování však v literatuře je dostupný dostatek dat pouze pro směs benzen-ethanol [102,103].

Kvantifikační limit jednotlivých látek byl zjištěn při nastavení přístroje na nejvyšší citlivost bez děliče toku mobilní fáze, hodnoty pro jednotlivé látky jsou zobrazeny v tab. 4.2. Jako minimální byl brán symetrický pík o výšce 0,3 mV, což odpovídá desetinásobku šumu. Detekční limit je třikrát nižší – 3,3 násobek šumu.

Tab. 4.2. Kvantifikační limit LOQ (Limit Of Quantification)

látka	LOQ . 10 ¹¹ (mol)
ethanol	71,0
benzen	1,4
anilin	1,8
nitrobenzen	1,0

4.2.1.3. Kalibrace

Pro každou sloučeninu byla sestrojena kalibrační přímka [96,104] jako závislost plochy píku sloučeniny na chromatogramu na množství sloučeniny, které bylo dávkováno na kolonu chromatografu. Směrnice přímek jsou v tab. 4.3. Pro každý bod přímky byly připraveny dva roztoky čistých sloučenin v toluenu o stejné koncentraci, s každým roztokem byla provedena tři měření. Kalibrace byla pravidelně ověřována, odezva detektoru byla stabilní.

V koncentračním oboru měření byla odezva detektoru lineární. Při použití děliče nástřiku je linearita zachována. Opakovatelnost nástřiků je dostačující – RSO < 5 %.

Tab.4.3. Kalibrace detektoru - závislost plochy píku na množství na detektoru [mol]

látka	směrnice	r
ethanol	$7,06 \cdot 10^{10}$	0,997
benzen	$1,45 \cdot 10^{11}$	0,998
anilin	$1,81 \cdot 10^{11}$	0,999
nitrobenzen	$1,01 \cdot 10^{11}$	0,998

4.2.2. Mikroextrakce tuhou fází

Detekční limit při přímém nástřiku mikrostříkačkou nebyl pro nízké koncentrace sloučeniny v plynné fázi nad některými vodnými roztoky směsí dostatečně nízký. Dávkovací smyčka nebyla k dispozici. V těchto případech bylo nutné dávkovat na kolonu až 100 μ l, což pro kapilární kolonu představuje vysokou zátěž, zhoršují se parametry chromatografického systému. Pro odběr vzorku z plynné fáze proto byla použita mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase MicroExtraction – SPME).

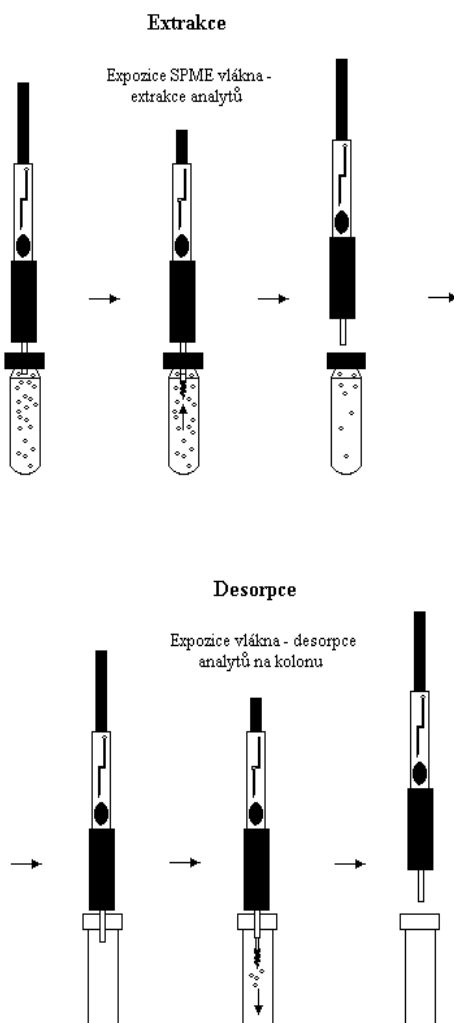
SPME je rychlá, technicky nenáročná sorpční metoda vzorkování organických látek z plynné nebo kapalně fáze. Zahrnuje vzorkování, izolaci a zakoncentrování vzorku v jednom kroku. Při vzorkování z kapalně fáze není třeba používat rozpouštědla, postačuje malé množství vzorku [105]. Při vzorkování plynné fáze (např. headspace analýzy) je tato metoda schopna zachytit i nízké koncentrace sledovaných analytů [106].

4.2.2.1. Instrumentace

Nejdůležitější součástí zařízení, 1 cm dlouhé křemenné vlákno pokryté polymerem, je spojeno s ocelovým pístem a umístěno v duté ocelové jehle, která jej chrání před mechanickým poškozením.

Jehla se zataženým vláknem propíchně septum zátky lahve s roztokem a vlákno se vysune do prostoru nad hladinou. Analyty jsou sorbovány polymerní fází pokrývající křemenné vlákno až do dosažení rovnováhy v systému. Po nasorbování analytu je vlákno zasunuto zpět do jehly, vyjmuto a v této podobě zavedeno do injektoru plynového chromatografu, kde je analyt po vysunutí vlákna tepelně desorbován a unášen do kolony (obr. 4.1.). Teplota injektoru by měla být dostatečně vysoká, aby zaručila rychlou a kvantitativní desorpci. Zároveň je ale omezena teplotní stabilitou povlaku vlákna [107].

Obrázek 4.1. Použití SPME vlákna

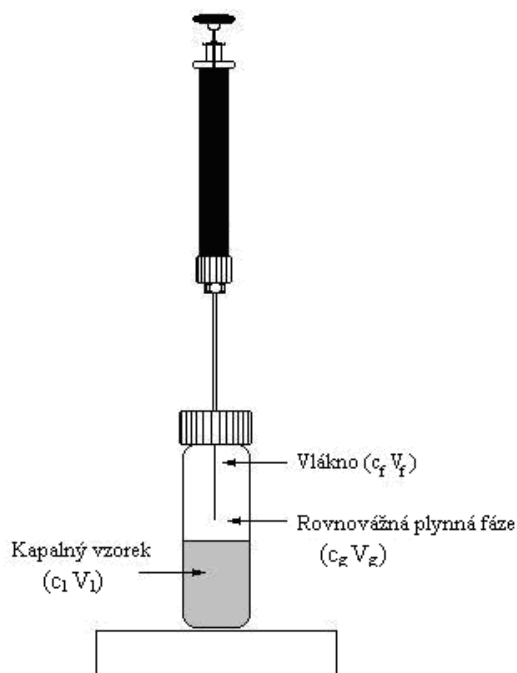


4.2.2.2. Teorie SPME [98,99,108]

Na rozdíl od klasických extrakčních metod, kdy cílem je extrakce veškerého analytu ze vzorku, SPME je metoda rovnovážná. Množství analytu extrahovaného fází v rovnováze je dáno hodnotou rozdělovacího koeficientu analytu mezi maticí a sorpčním materiálem. Rovnovážný stav je závislý na koncentraci analytu ve vzorku a na typu fáze, pokrývající vlákno. Selektivitu extrakce je možné ovlivnit typem fáze pokrývající vlákno.

SPME je multifázový rovnovážný proces (obr. 4.2.). V této práci byl použit systém tří fází (kapalná fáze, plynná fáze a absorpční fáze – vlákno) s počáteční koncentrací analytu v kapalně fázi c_0 . Množství extrahovaného analytu ($n_f = c_f V_f$) na vlákno je spojenou s celkovou rovnováhou v třífázovém systému.

Obr. 4.2. Třífázový extrakční systém [99]



Protože celkové množství analytu zůstává během extrakce stejné jako počáteční, platí:

$$c_0 V_0 = c_f V_f + c_g V_g + (c_l V_l) \quad (4.1.)$$

kde c_f , c_g , c_l jsou rovnovážné koncentrace analytu na vlákne, v rovnovážné plynné fázi a v roztoku, V_f , V_g , V_l je objem fáze na vlákne, objem rovnovážné plynné fáze a objem roztoku (matrice).

Definujeme-li distribuční konstantu mezi vlákem a rovnovážnou plynnou fází jako

$$K_{fg} = c_f / c_g \quad (4.2.)$$

a distribuční konstantu mezi rovnovážnou plynnou fází a kapalinou vzorku jako

$$K_{gl} = c_g / c_l \quad (4.3.)$$

Potom množství analytu absorbované vlákem

$$n = c_f V_f \quad (4.4.)$$

lze vyjádřit jako

$$n = (K_{fg} K_{gl} V_f c_0 V_l) / (K_{fg} K_{gl} V_f + K_{gl} V_g + V_l) \quad (4.5.)$$

Hnací silou pro ustanovení rovnováhy je rozdíl chemických potenciálů ve všech třech fázích. Chemické potenciály μ analytu v jednotlivých fázích můžeme vyjádřit

$$\mu_f = \mu^0 + RT \ln (p_f / p^0) \quad (4.6.)$$

$$\mu_g = \mu^0 + RT \ln (p_g / p^0) \quad (4.7.)$$

$$\mu_l = \mu^0 + RT \ln (p_l / p^0) \quad (4.8.)$$

kde μ^0 je chemický potenciál analytu za standardního tlaku ($p^0 = 101325 \text{ Pa}$) a při teplotě T a p_g , p_f , p_l jsou rovnovážné tenze par analytu v jednotlivých bázích extrakčního systému. Při rovnovážném stavu musí být chemické potenciály v jednotlivých fázích shodné a musí tedy platit

$$p_f = p_g = p_l \quad (4.9.)$$

Vzhledem k nízké koncentraci analytu v rovnovážné plynné fázi předpokládáme ideální chování plynu a tudíž i platnost stavové rovnice

$$p_g = c_g R T \quad (4.10.)$$

Na základě Henryho zákona ($c_g = K_H c_l$) lze vyjádřit

$$p_l = K_H c_l \quad (4.11.)$$

kde K_H je tabelovaná Henryho konstanta pro jednotlivé látky.

Pro distribuční konstanty pak platí

$$K_{gl} = c_g / c_l = 1 / K_H \quad (4.12.)$$

Pro vodné roztoky lze K_{gl} zjistit z tabelovaných hodnot bezrozměrných Henryho konstant K_H / RT .

Pro množství analytu absorbovaného vláknem platí

$$n = (K_{fl} V_f c_0 V_l) / (K_{fl} V_f + K_{gl} V_g + V_l) \quad (4.13.)$$

kde výrazy ve jmenovateli udávají kapacity pro jednotlivé fáze. Z tohoto vztahu lze i obráceným postupem vypočítat koncentraci analytu v plynné fázi [109]. V praxi je jednodušší použít metodu externí kalibrace (u headspace analýz) nebo metodu interního standardu.

4.2.2.3. Výběr vlákna

Při vzorkování se po vysunutí vlákna do vzorku analyty dělí mezi vlákno a matici. Extrakce je ovlivněna typem vlákna i tloušťkou sorpční fáze. Zvýšení tloušťky povlaku zvyšuje citlivost, ale prodlužuje čas sorpce. Nejvíce je extrakce ovlivněna typem povlaku vlákna [110,111].

Ke zlepšení extrakce lze použít vnitřní chlazení vlákna, vysolování z roztoku nebo derivatizaci analytu, žádná z těchto technik však v této práci nebyla použita [105,112,113].

Podle mechanismu extrakce je možné vlákna rozdělit do dvou skupin. Polydimetylsiloxan (PDMS), vysoce viskózní kapalná fáze a polyakrylát (PA), pevná krystalická fáze, vážou analyty na principu absorpce. Carboxen / PDMS, směsná fáze, s pevným porézním sorbentem jako primární extrakční fází zakoncentrovává analyt převážně adsorpcí. Póry Carboxenu, které jsou velmi malé, přispívají k extrakci analytů na principu kapilární kondenzace.

U SPME není možné přesně odhadnout, které vlákno je nejvhodnější pro daný analyt. Podle údajů výrobce bylo vybráno několik vláken a tyto pak dále testovány (tab. 4.4.) [114]. U každého vlákna byla sledována citlivost k analytu, možný vliv kompetice analytů na vlákne a doba sorpce.

Tab. 4.4. Přehled fyzikálně – chemických vlastností a pracovních podmínek vybraných SPME vláken

stacionární fáze, tloušťka filmu	doporučené použití	typ fáze	typ sorpce	teplota		
				max. (°C)	pracovní (°C)	aktivace (°C)
PDMS100 µm	nepolární látky	nevázaná	absorbent	280	200-270	250
PDMS7 µm	slabě polární až nepolární středně těkavé látky	vázaná	absorbent	340	220-320	320
PA 85 µm	polární, středně těkavé látky	zesíťovaná	absorbent	320	220-310	260
CAR / PDMS 75 µm	stopové koncentrace těkavých látek	zesíťovaná	adsorbent	320	240-300	280

4.2.2.4. Citlivost vlákna k analytu

Protože koncentrace v plynné fázi jsou velmi malé, bylo třeba vybrat vlákno s vysokou citlivostí k analytu [115].

Vlákna byla testována pro všechny použité látky. Byla porovnávána množství absorbovaná na vlákno pro dvě různé koncentrace kapalných fází (tab. 4.5.). Koncentrace se pro jednotlivé látky liší v závislosti na rozpustnosti a koncentracích použitých v experimentech.

Doba sorpce byla pro všechna vlákna jednotná (20 min). U všech vláken je to doba dostačující k ustavení rovnováhy.

Tab. 4.5. Porovnání SPME vláken - závislost množství absorbovaného na vlákně [mol] na druhu vlákna

látka	c_i [mol/l]	PDMS 100	PDMS 7	PA 85
ethanol	0,02	$5,79 \cdot 10^{-10}$	$5,08 \cdot 10^{-11}$	$1,05 \cdot 10^{-9}$
	0,1	$3,04 \cdot 10^{-9}$	$2,67 \cdot 10^{-10}$	$5,53 \cdot 10^{-9}$
benzen	0,002	$7,55 \cdot 10^{-8}$	$5,69 \cdot 10^{-9}$	$5,28 \cdot 10^{-8}$
	0,01	$4,07 \cdot 10^{-7}$	$3,07 \cdot 10^{-8}$	$2,84 \cdot 10^{-7}$
anilin	0,004	$4,69 \cdot 10^{-9}$	$3,82 \cdot 10^{-10}$	$4,41 \cdot 10^{-9}$
	0,02	$2,17 \cdot 10^{-8}$	$1,77 \cdot 10^{-9}$	$2,04 \cdot 10^{-8}$
nitrobenzen	0,001	$1,57 \cdot 10^{-8}$	$1,19 \cdot 10^{-9}$	$1,40 \cdot 10^{-8}$
	0,005	$8,98 \cdot 10^{-8}$	$6,77 \cdot 10^{-9}$	$7,97 \cdot 10^{-8}$

4.2.2.5. Závěry pro jednotlivá vlákna:

PDMS 100 μm – vlákno s vysokou citlivostí k daným analytům, bylo použité pro měření všech typů směsi.

PDMS 7 μm – citlivost je nižší než u PDMS 100 μm , pro analýzu není vhodné. Pro sledované analyty je výtěžnost malá.

PA 85 μm - vlákno má vyhovující citlivost k analytům, přestože je výrobcem uváděno jako vhodnější pro látky s vyšší relativní molekulovou hmotností. Pro tento typ stanovení není vlákno vhodné, při analýze dochází k chvostování a rozmývání píků, zřejmě vlivem pomalé desorpce analytu v injektoru.

Carboxen / PDMS – citlivost vůči analytům je dostatečná, projevuje se zde však silná kompetice [116]. Ve směsi ethanol - benzen, použité k porovnání vláken, je ethanol silně vytlačován benzenem. Přes svou vysokou citlivost není vlákno vhodné pro tento typ analýzy.

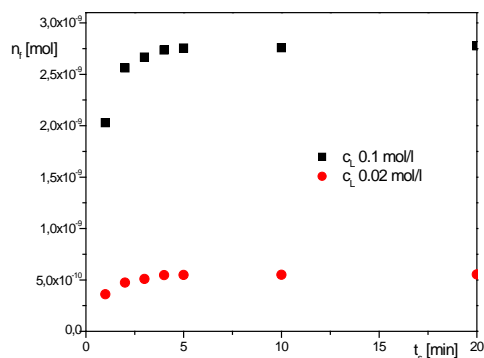
Jako nejvhodnější se ukázalo vlákno PDMS 100 μm , které má vysokou citlivost vůči sledovaným látkám, nejeví vliv kompetice a čas sorpce je nízký. Dovoluje provedení většího počtu analýz za sebou bez přerušování práce.

4.2.2.6. Závislost množství analytu absorbovaného vláknem (n_f) na době sorpce

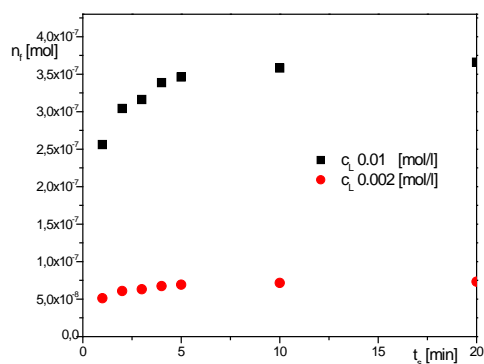
Doba sorpce je dána časem potřebným pro extrakci dostatečného množství analytu. Extrakční čas je kritickým parametrem vzorkování [113]. Pokud není dosaženo rovnováhy mezi vláknem a matricí, mění se s časem vzorkování i množství analytu na vlákně. Pokud je dosaženo rovnovážného stavu, množství analytu na vlákně se dále nemění a je závislé pouze na koncentraci analytu ve vzorku.

Pro zvolené vlákno - PDMS 100 μm – byla testována závislost množství analytu absorbovaného vláknem (c_f) na době sorpce. Doba sorpce byla sledována v rozmezí 1 - 20 min. Závislosti jsou zobrazeny v grafech 4.1. až 4.4. Jako dostačující byla zvolena doba sorpce 5 minut.

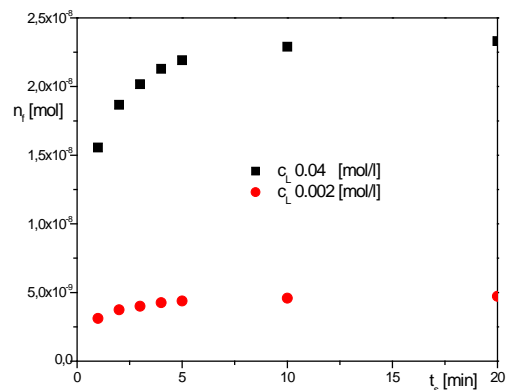
Graf 4.1. Ethanol – závislost množství absorbovaného na vlákno na čase sorpce



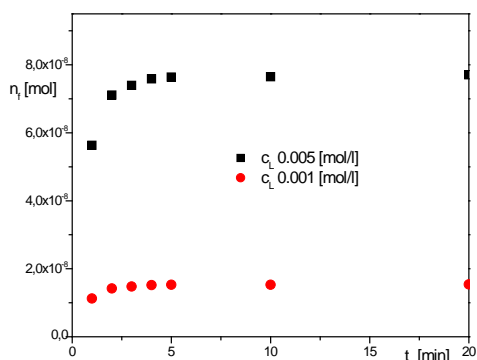
Graf 4.2. Benzen – závislost množství absorbovaného na vlákno na čase sorpce



Graf 4.3. Anilin – závislost množství absorbovaného na vlákno na čase sorpce



Graf 4.4. Nitrobenzen – závislost množství absorbovaného na vlákno na čase sorpce



4.2.2.7. Kalibrace

Pro všechny čisté sloučeniny použité k přípravě směsí v této studii byla konstruována závislost množství analytu absorbovaného vláknem z plynné fáze (mol) na koncentraci analytu v plynné fázi téhož roztoku (mol.l^{-1}) – kalibrační přímka SPME [115].

Pro každý bod kalibrace byly připraveny tři roztoky stejné koncentrace a z každého provedeny dva odběry mikrostříkačkou a dvě sorpce vláknem po dobu 5 min. Pomocí kalibrační přímky přístroje, popsané v části 4.3.1.3., byla stanovena jak koncentrace analytu v plynné fázi, tak množství absorbované vláknem. Množství odebrané mikrostříkačkou se pohybovalo mezi 10 – 100 μl dle koncentrace analytu.

Byla sestrojena pětibodová kalibrační přímka SPME v rozmezí dvou řádů koncentrací sloučeniny v kapalně fázi (tab. 4.6.). Rozmezí kalibrací použité v této práci leželo v lineární části kalibrační křivky vlákna.

Stabilita funkce vlákna byla ověřována po každých 30 analýzách na dvou bodech kalibrace. Pokud byl nalezen rozdíl proti původní hodnotě, sorpční vlákno bylo vyměněno a otestováno.

Tab. 4.6. Kalibrace SPME vlákna - závislost absorbovaného množství [mol] na koncentraci v plynné fázi [mol/l]

látka	směrnice	r
ethanol	$1,85 \cdot 10^{-4}$	0,998
benzen	$2,34 \cdot 10^{-4}$	0,997
anilin	$1,73 \cdot 10^{-2}$	0,998
nitrobenzen	$2,60 \cdot 10^{-2}$	0,998

4.2.2.8. Objem vzorku

V experimentech byly použity dva objemy vzorku. Nejdříve byly používány vialy o objemu 4 ml, ve kterých byl 1 ml kapalné fáze. Toto uspořádání se ukázalo jako nevhodné, neboť docházelo k ovlivnění rovnováhy vláknem. Absorpční schopnost vlákna je velmi vysoká, zatímco celkové množství analytu v plynné fázi je nízké. Množství absorbovaného analytu závisí na jeho koncentraci, docházelo tedy k vyčerpání analytu z plynné fáze. Následně byly použity lahve o objemu 300 ml, uzavřené pryžovou zátkou a teflonovým septem. Objem kapalné fáze byl 100 ml. Množství vzorku v plynné fázi již bylo dostatečně vysoké a sorpci nedocházelo k ovlivnění rovnováhy.

4.2.2.9. Příprava vlákna k měření

Před prvním použitím bylo každé vlákno aktivováno v injektoru plynového chromatografu 3 hodiny při teplotě 250 °C dle specifikace výrobce.

4.3. POSTUP PRÁCE

4.3.1. Příprava vzorků

Vodné roztoky v rozmezí koncentrací, vyskytujících se v pokusu, byly připraveny rozpuštěním čistých látek ve 100 ml redestilované vody, za laboratorní teploty. Tyto roztoky pak byly přelity do 300 ml lahví uzavřených pryžovou zátkou a teflonovou folií.

4.3.2. Ustavení rovnováhy

Lahve byly po protřepání ponechány 60 minut bez míchání stát při laboratorní teplotě (25°C). Bylo ověřeno, že tato doba je dostatečná pro ustavení rovnovážných koncentrací analytu mezi vodnou a plynnou fází. Malá změna ($\pm 2^\circ\text{C}$) teploty na absorbované množství neměla vliv.

4.3.3. Dávkování

Po ustavení rovnováhy byl analyt sorbován vláknem PDMS 100 po dobu 5 minut při laboratorní teplotě. Po sorpci bylo vlákno zasunuto do injektoru plynového chromatografu a desorbováno po dobu 30 sekund. Pro každý bod byly připraveny 3 vzorky, z každého byl proveden jeden odběr. Bod byl měřen alespoň dvakrát, vždy byla v rozmezí tří měsíců opakována celá série.

4.4. VÝPOČTY

Výsledky měření byly vynášeny jako závislost normalizovaných distribučních koeficientů (K_{mix}), případně normalizovaných koncentrací v plynné fázi (c'_g), na složení roztoku vyjádřené molárním zlomkem R (R-grafy) [8,14].

4.4.1. R - Molární zlomek, normalizovaný molární zlomek

Tvoří-li látky A a B binární směs, pak molární zlomek látky A, R_A , je dán rovnicí 4.14.:

$$R_A = \frac{c_A}{c_A + c_B} \quad (\text{rov. 4.14.})$$

kde c_A je koncentrace látky A (mol.l^{-1}), c_B koncentrace látky B (mol.l^{-1}) ve sledovaném vodném roztoku binární směsi.

Normalizovaný molární zlomek R' je dán rovnicí 4.15:

$$R'_A = \frac{\frac{c_A}{c_{0A}}}{\frac{c_A}{c_{0A}} + \frac{c_B}{c_{0B}}} \quad (\text{rov. 4.15.})$$

kde c_A je koncentrace látky A (mol.l^{-1}), c_B koncentrace látky B (mol.l^{-1}) ve sledovaném vodném roztoku binární směsi, c_{0A} a c_{0B} jsou koncentrace látky A nebo B v jejich roztocích o koncentraci EC50.

R-graf je graf závislosti normalizovaných měřených nebo vypočtených veličin, tj. koncentrace ve fázích, koeficientu distribuce nebo EC50 (T.t.), na molárním zlomku R jedné ze složek směsi.

4.4.2. Koncentrace analytu v plynné (c_g , mol.l^{-1}) a kapalná (c_l , mol.l^{-1}) fázi v rovnováze, distribuční koeficienty, jejich normalizace [8,14]

Koncentrace analytu v plynné fázi byla vypočtena z naměřené plochy píku na chromatogramu pomocí kalibrační přímky SPME. Koncentrace analytu ve vodné fázi po ustavení rovnováhy byla vypočtena odečtením množství, které bylo stanoveno v plynné fázi.

Normalizace znamená vztahování naměřené koncentrace analytu A ve směsi A+B na koncentraci látky v jednosložkovém roztoku; normalizovaná koncentrace jednosložkového roztoku je vždy 1,0. Označíme-li koncentraci látky A ve vodném roztoku směsi A+B v rovnováze s plynnou fází jako c_{lA} (mol.l^{-1}) a její koncentraci v roztoku o koncentraci

EC50 v rovnováze s plynnou fází jako c_{0IA} (mol.l^{-1}), pak normalizovaná koncentrace látky A ve vodném roztoku směsi v rovnováze s plynnou fází c'_{IA} (bezrozměrná) je (rov. 4.16.):

$$c'_{IA} = \frac{c_{IA}}{c_{0IA}} \quad (\text{rov. 4.16.})$$

a analogicky pro c'_{gA} , c'_{IB} a c'_{gB} , přičemž c_{0gA} nebo c_{0gB} jsou molární koncentrace látek A a B v plynné fázi v rovnováze se svým vodným roztokem o koncentraci EC50.

Suma normalizovaných koncentrací obou látek A a B ve vodné fázi je (rov. 4.17.):

$$\sum c'_I = c'_{IA} + c'_{IB} \quad (\text{rov. 4.17.})$$

a analogicky pro c'_g a $\sum c'_g$.

Normalizovaný rozdělovací koeficient P' byl počítán pro samostatné složky směsi A a B jako (rov. 4.18.):

$$P'_A = \frac{c'_{gA}}{c'_{IA}} \quad P'_B = \frac{c'_{gB}}{c'_{IB}} \quad (\text{rov. 4.18.})$$

zkráceně c'_g/c'_I s označením o jakou sloučeninu jde v legendě ke grafu.

Normalizovaný koeficient distribuce směsi K_{mix} je definován stejně jako byl definován toxický index EC50 (T.t.), kde příspěvky složek směsi od sebe nejdou rozlišit, tj. poměrem součtů normalizovaných koncentrací látek A a B v plynné a kapalně fázi, které jsou v rovnováze (rov. 4.19.):

$$K_{\text{mix}} = \frac{\sum c'_g}{\sum c'_I} \quad (\text{rov. 4.19.})$$

Normalizace hodnot umožňuje porovnávat veličiny i značně rozdílné v absolutní hodnotě (rozdělovací koeficienty), sčítat do jednoho čísla příspěvky obou chemikálií ve směsi a ty porovnávat při různých molárních zlomcích ($\sum c'_g$, K_{mix}).

4.4.3. Aditivita

Pokud je normalizovaná hodnota součtu příspěvků chemikálií rovna 1,0, není tato veličina chemikálií ve směsi ovlivněna a příspěvky jednotlivých látek jsou v součtu

aditivní. Pokud je od hodnoty 1,0 rozdílná, znamená to odchylku od aditivity. Příspěvky jednotlivých látek jsou potom větší nebo menší, než předpokládané.

4.4.4. Statistické hodnocení [14,117,118]

Statistické hodnocení bylo použito k ověření vlastností chromatografického systému a k testování aditivity příspěvků jednotlivých složek k celkovému složení plynné fáze.

4.4.4.1. Chromatografický systém

Opakovatelnost a reprodukovatelnost stanovení byly testovány pomocí základních parametrů jako standardní odchylka (SO) a relativní standardní odchylka (RSO). K výpočtu těchto parametrů byl používán program Microsoft Excel. Tyto parametry jsou obecně známy, proto zde jejich výpočet není uveden.

4.4.4.2. Testování aditivity

K výpočtům byl opět použit program Microsoft Excel. Z naměřených dat byly vypočítány parametry P' a K_{mix} . Pro tyto parametry byl proveden Studentův t-test s nulovou hypotézou $\mu_0 = 1$. Výsledky testů byly hodnoceny na hladině $\alpha = 0,05$.

4.4.4.3. Studentův t-test

Pro testy hypotéz o parametrech μ a σ^2 normálního rozdělení ze souboru s rozdělením $N(\mu, \sigma^2)$ provedeme náhodný výběr rozsahu n , vypočteme průměr a směrodatnou odchylku SD. Základní hypotéza H_0 se týká rovnosti neznámého parametru x dané známé konstantě μ_0 . Jako testovou statistiku zvolíme náhodnou veličinu

$$t = \frac{\bar{X} - \mu_0}{s} \sqrt{n} \quad (\text{rov. 4.20.})$$

Alternativní hypotézu přijmeme, pokud $t \geq t_{(1-\alpha/2)(n-1)}$.

V tomto případě testujeme rovnost $K_{\text{mix}} = 1$. Pokud na přijaté hladině významnosti přijmeme nulovou hypotézu, prohlásíme chování systému za aditivní.

4.4.4.4. Bonferroniho korekce

Byla použita Bonferroniho korekce pro vícenásobné výběry. V daném porovnání provedeme modifikované t-testy s upravenou hladinou významnosti. Tu získáme tak, že hladinu α vydělíme celkovým počtem porovnání, která chceme provést. Tato hodnota pak

bude naší hladinou významnosti pro každý t -test. Nulová a alternativní hypotéza jsou stejné jako pro nekorigovaný t -test.

4.4.4.5. Postup výpočtů

Byl vypočten parametr t , nebyl však porovnáván s tabelovanou hodnotou t_{krit} . Z hodnoty parametru t byla přímo vypočtena pravděpodobnost, s jakou je platná nulová hypotéza (potvrzení aditivity). Tato pravděpodobnost byla porovnána s hladinou pravděpodobnosti odpovídající $\alpha = 0,05$ s Bonferroniho korekcí. Pokud je vypočtená pravděpodobnost vyšší než α , byla aditivita považována za potvrzenou.

4.4.4.6. Test shody K_{mix} a $EC50'$ - test shody středních hodnot

Byly provedeny též testy shody normalizovaných parametrů K_{mix} a $EC50'$. Pro tento test byl použit opět t -test, a to test shody středních hodnot.

t -test umožňuje testovat hypotézu $H_0 \mu_x = \mu_y$ proti alternativní hypotéze $H_0 \mu_x \neq \mu_y$ za podmínky $\sigma_x^2 \neq \sigma_y^2$. Testovací kritérium má tvar:

$$T = \frac{|\bar{x} - \bar{y}|}{\sqrt{\frac{S_x^2}{n_1} + \frac{S_y^2}{n_2}}} \quad (\text{rov. 4.21.})$$

Zde byla testována rovnost $K_{\text{mix}} = EC50'$ pro každý bod R grafu zvlášť. V tomto případě nebyla použita Bonferroniho korekce.

5. VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1. VÝSLEDKY MĚŘENÍ – POROVNÁNÍ K_{MIX} A $EC50'$

V této kapitole jsou uvedeny výsledky měření, porovnávající $EC50$ a K_{mix} . Byly zkoumány roztoky binárních směsí, koncentrace jednotlivých roztoků vždy odpovídaly koncentraci $EC50$ pro jednotlivé molární zlomky testované směsi.

Přesnost a reprodukovatelnost měření je vyjádřena intervalem spolehlivosti na úrovni $\alpha = 0,05$. V grafech je vyjádřena svislou úsečkou, procházející bodem, vyjadřujícím průměr z 6 měření. Úsečka není zdánlivě uvedena, pokud nepřesahuje rozměr bodu.

V R-grafu horizontální přerušovaná čára při hodnotě závisle proměnné (c'_g/c'_1 , $\Sigma c'_g$, K_{mix} , případně $EC50$) rovné 1,0 odpovídá aditivitě. Jsou uvedeny závislosti na R i na R' pro lepší znázornění vztahů. Shoda normalizovaných koeficientů distribuce směsi s aditivitou distribučního pochodu mezi plynnou a kapalnou fází byla testována pro každý bod pomocí t-testu s Bonferroniho korekcí na vícenásobné výběry. Významnost odchylek je v grafech K_{mix} a $\Sigma c'_g$ vyznačena nad průměry na hladině statistické významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky jsou řazeny podle jednotlivých testovaných směsí. Pro každou směs jsou uvedeny nejprve tabulky s výsledky, poté jednotlivé grafy.

V tabulkách jsou uvedeny následující hodnoty:

1.

R	R'	c'_g/c'_1 látky A	c'_g/c'_1 látky B	K_{mix}	$P(K_{\text{mix}} = 1)$
---	----	---------------------	---------------------	------------------	-------------------------

2.

R	R'	c'_g látky A	c'_g látky B	$\Sigma c'_g$	$P(\Sigma c'_g = 1)$
---	----	----------------	----------------	---------------	----------------------

3.

R	R'	$EC50'$	K_{mix}	$P(EC50' = K_{\text{mix}})$
---	----	---------	------------------	-----------------------------

Grafy výsledků jednotlivých směsí jsou řazeny v pořadí: $EC50'$, K_{mix} , c'_g/c'_1 , c'_1 , $\Sigma c'_g$, c'_g vždy pro R a R' , na závěr je zobrazena závislost c'_g na c'_1 . Lze tedy sledovat i příspěvky jednotlivých látek.

Normalizovaný molární zlomek R' byl převzat z práce [11], cílem bylo porovnat chování rozdělovacího koeficientu s výsledky měření parametru $EC50$. V druhé části práce se již tento parametr nepoužívá a naměřené hodnoty jsou vztahovány k molárnímu zlomku R . Vzhledem ke konstantní molární koncentraci roztoků jsou zde R a R' totožné.

5.1.1. Benzen – ethanol

Tab. 5.1.1.1. Hodnoty K_{mix} , rozdělovací koeficienty jednotlivých látek, výsledky testu aditivity K_{mix}

R_{benzen}	R'_{benzen}	c_g'/c_l' benzen	c_g'/c_l' ethanol	K_{mix}	$P(K_{mix} = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,804	aditivita
0,002	0,071	2,044	0,927	1,006	0,875	aditivita
0,006	0,184	1,878	1,021	1,178	0,000	rozdíl
0,009	0,252	1,675	1,069	1,221	0,000	rozdíl
0,013	0,330	1,462	1,108	1,225	0,000	rozdíl
0,019	0,420	1,564	1,035	1,257	0,000	rozdíl
0,028	0,518	1,567	1,061	1,323	0,000	rozdíl
0,043	0,625	1,551	1,189	1,415	0,000	rozdíl
0,070	0,739	1,237	1,218	1,232	0,000	rozdíl
0,146	0,865	1,299	1,207	1,286	0,000	rozdíl
0,397	0,961	1,330	0,849	1,311	0,000	rozdíl
0,789	0,993	1,406	0,469	1,400	0,000	rozdíl
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.1.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity $\Sigma c_g'$

R_{benzen}	R'_{benzen}	c_g' benzen	c_g' ethanol	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,002	0,071	0,143	0,847	0,990	0,798	aditivita
0,006	0,184	0,366	0,882	1,249	0,000	rozdíl
0,009	0,252	0,507	0,961	1,467	0,000	rozdíl
0,013	0,330	0,559	0,857	1,416	0,000	rozdíl
0,019	0,420	0,855	0,780	1,634	0,000	rozdíl
0,028	0,518	1,175	0,739	1,914	0,000	rozdíl
0,043	0,625	1,512	0,694	2,206	0,000	rozdíl
0,070	0,739	1,423	0,494	1,917	0,000	rozdíl
0,146	0,865	1,624	0,236	1,859	0,000	rozdíl
0,397	0,961	0,798	0,021	0,819	0,000	rozdíl
0,789	0,993	0,738	0,002	0,740	0,000	rozdíl
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.1.3. Porovnání hodnot K_{mix} a $EC50'$

R_{benzen}	R'_{benzen}	$EC50'$	K_{mix}	$P (EC50' = K_{mix})$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	stejnost
0,002	0,071	1,000	1,006	0,902	stejnost
0,006	0,184	1,047	1,178	0,001	rozdíl
0,009	0,252	1,202	1,221	0,735	stejnost
0,013	0,330	1,166	1,225	0,148	stejnost
0,019	0,420	1,312	1,257	0,475	stejnost
0,028	0,518	1,46	1,323	0,012	rozdíl
0,043	0,625	1,572	1,415	0,096	stejnost
0,070	0,739	1,573	1,232	0,000	rozdíl
0,146	0,865	1,444	1,286	0,029	rozdíl
0,397	0,961	0,894	1,311	0,000	rozdíl
0,789	0,993	0,821	1,400	0,000	rozdíl
1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	stejnost

U směsi benzen-ethanol se od aditivity významně liší hodnoty $\Sigma c_g'$ i K_{mix} . Je to způsobeno zejména chováním benzenu, rozdělovací koeficient je závislý na přítomnosti ethanolu v systému. Na grafu 5.1.1.6. je evidentní závislost, hodnota rozdělovacího koeficientu benzenu výrazně stoupá od hodnoty 1,0 při $R'_{benzen} = 1,0$ (normalizovaný rozdělovací koeficient nutně rovný 1,0) k hodnotě převyšující 2 při $R'_{benzen} = 0,071$. Hodnota rozdělovacího koeficientu ethanolu se od aditivity liší v rozmezí chyb, až při vysokých hodnotách ($R'_{benzen} > 0,7$) prudce klesá.

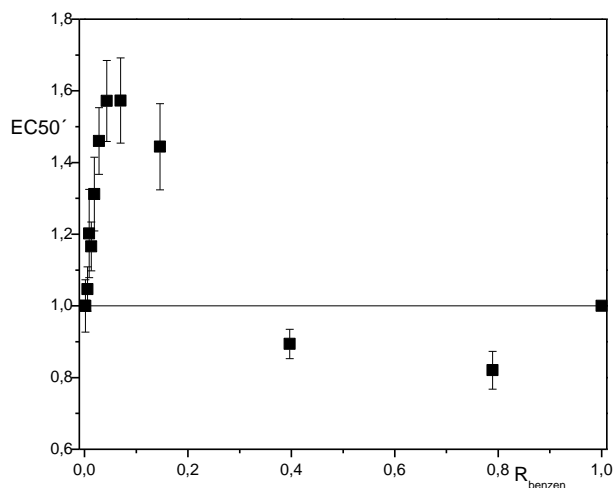
Významné změny vykazuje suma normalizovaných koncentrací látek v binární směsi $\Sigma c_g'$ (grafy 5.1.1.9., 5.1.1.10.). Součet normalizovaných koncentrací benzenu a ethanolu v plynné fázi je až násobně vyšší (R'_{benzen} 0,4 až 0,8).

Stejně chování lze pozorovat u K_{mix} . I zde lze pozorovat významné odchylky od aditivity.

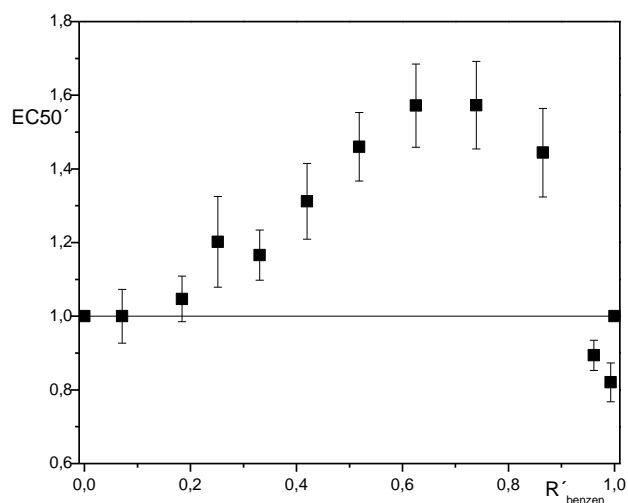
R-graf pro K_{mix} téměř sleduje R-graf pro $EC50$. Shoda je statisticky významná u téměř poloviny bodů (viz graf č. 5.1.1.3). Liší se však v bodech s vyšším R_{benzen} , odchylka od aditivity je zde opačná. Mohlo by se zdát, že K_{mix} pouze sleduje koncentrační závislost, která je v případě směsi benzenu s ethanollem evidentní. Že to není převažující faktor pro závislost K_{mix} na R'_{benzen} prokazuje graf 5.1.1.6., kde je vidět, že závislosti rozdělovacích koeficientů benzenu a ethanolu mají zcela odlišný charakter a výsledný R-graf pro K_{mix} směsi je výsledkem až jejich „součtu“.

Jde evidentně o vzájemné ovlivnění složek ve směsi, zejména benzenu a pro R'_{benzen} blíží se 1,0 i ethanolu. Obě veličiny, biologická a fyzikálně-chemická, jsou pro všechny měřené poměry látek ve směsi významně od aditivity odlišné.

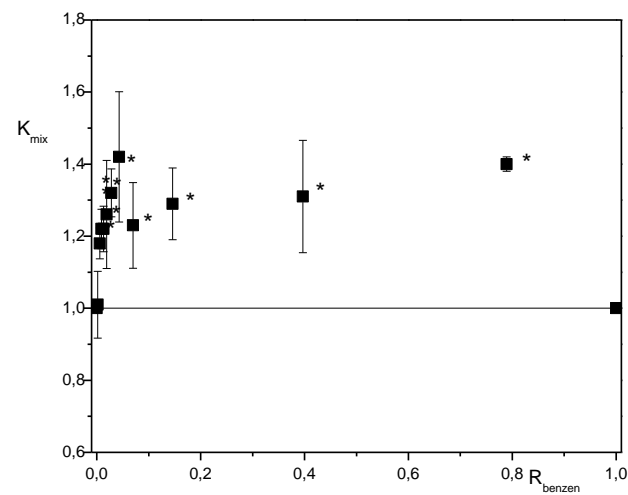
Graf 5.1.1.1. Směs benzen - ethanol: závislost EC50' na R_{benzen}



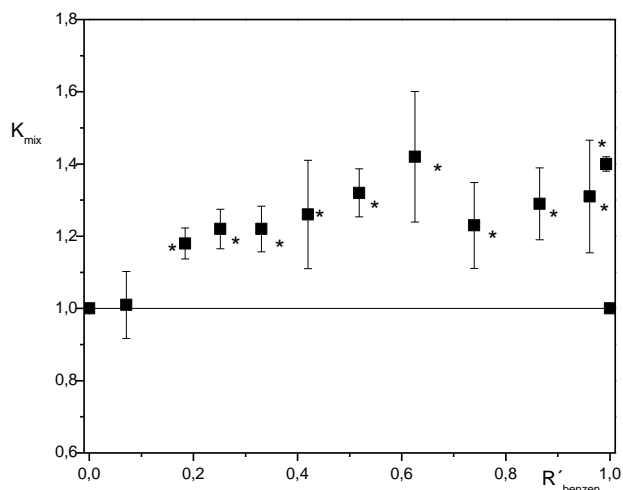
Graf 5.1.1.2. Směs benzen - ethanol: závislost EC50' na R' benzen



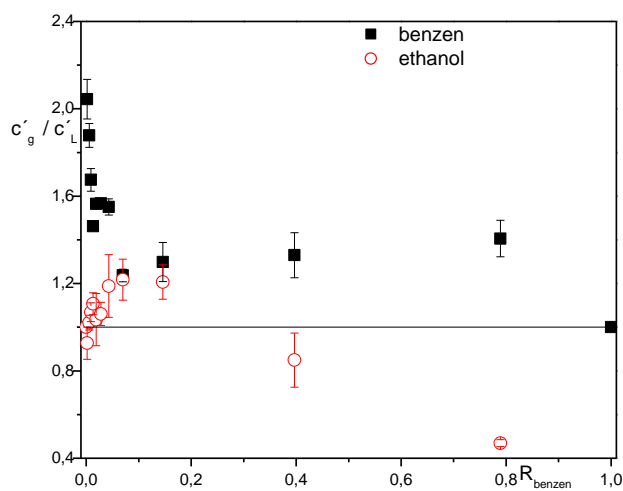
Graf 5.1.1.3. Směs benzen - ethanol: závislost K_{mix} na R_{benzen}



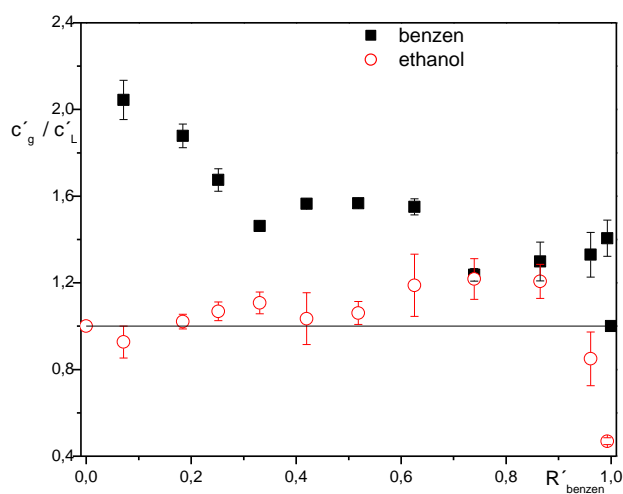
Graf 5.1.1.4. Směs benzen - ethanol: závislost K_{mix} na R'_{benzen}



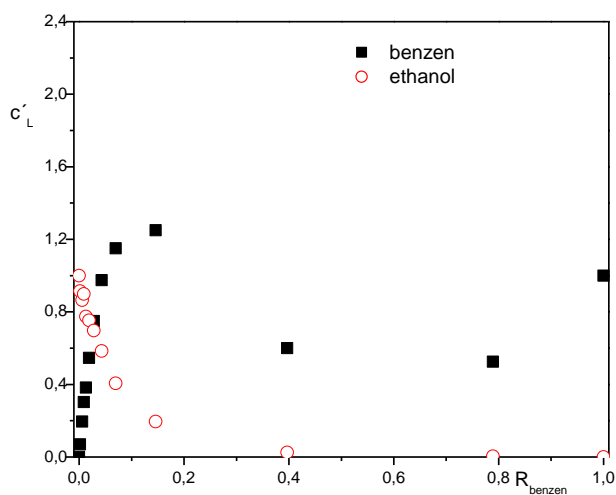
Graf 5.1.1.5. Směs benzen - ethanol: závislost c'_g/c'_l na R_{benzen}



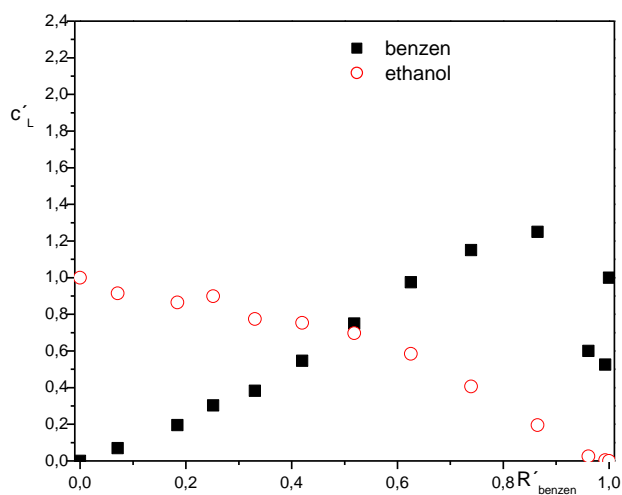
Graf 5.1.1.6. Směs benzen - ethanol: závislost c'_g/c'_l na R'_{benzen}



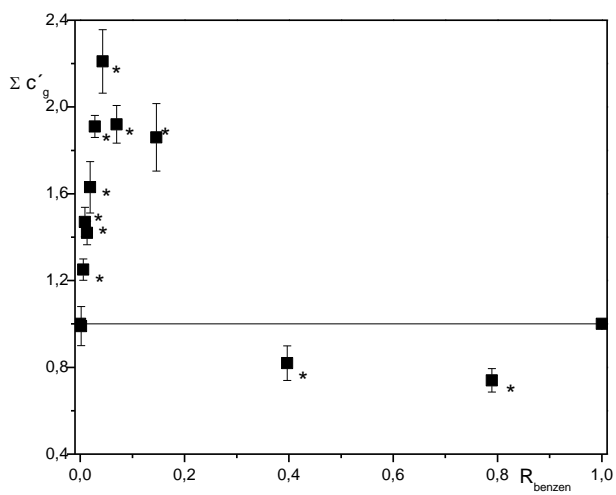
Graf 5.1.1.7. Směs benzen - ethanol: závislost c'_l na R_{benzen}



Graf 5.1.1.8. Směs benzen - ethanol: závislost c'_l na R'_{benzen}



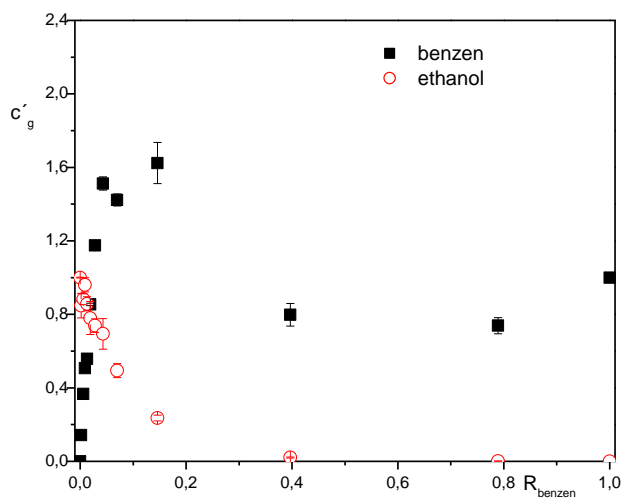
Graf 5.1.1.9. Směs benzen - ethanol: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{benzen}



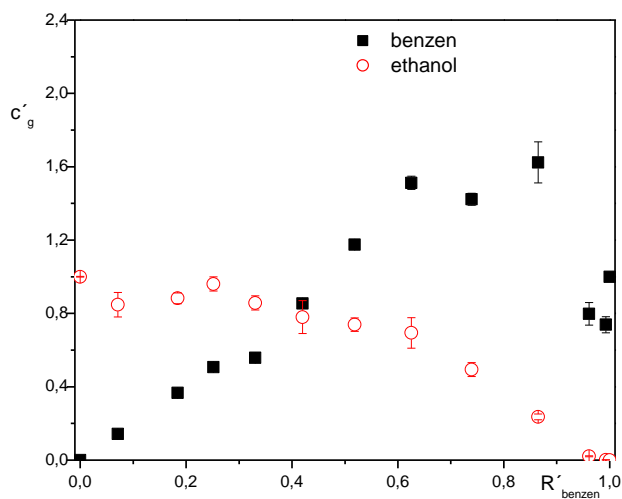
Graf 5.1.1.10. Směs benzen - ethanol: závislost $\Sigma c'_g$ na R'_{benzen}



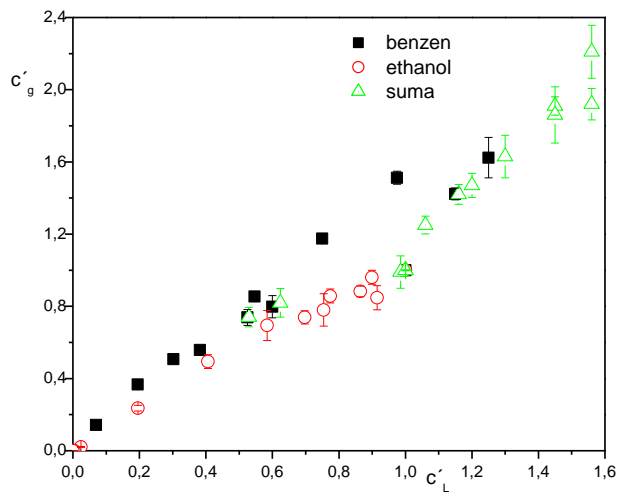
Graf 5.1.1.11. Směs benzen - ethanol: závislost c'_g na R_{benzen}



Graf 5.1.1.12. Směs benzen - ethanol: závislost c'_g na R'_{benzen}



Graf 5.1.1.13. Směs benzen - ethanol: závislost c'_g na c'_l



5.1.2. Benzen – anilin

Tab. 5.1.2.1. Hodnoty K_{mix} , rozdělovací koeficienty jednotlivých látek, výsledky testu aditivity K_{mix}

R_{benzen}	R'_{benzen}	c_g'/c_i' benzen	c_g'/c_i' anilin	K_{mix}	$P(K_{mix} = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,998	aditivita
0,049	0,095	0,667	1,142	1,097	0,000	rozdíl
0,093	0,173	0,772	1,005	0,964	0,389	aditivita
0,146	0,258	0,756	1,095	1,008	0,827	aditivita
0,204	0,343	0,901	1,009	0,972	0,538	aditivita
0,279	0,441	0,855	1,148	1,019	0,550	aditivita
0,359	0,533	0,698	1,007	0,842	0,002	rozdíl
0,483	0,655	0,774	1,254	0,940	0,001	rozdíl
0,578	0,736	0,771	1,061	0,847	0,022	aditivita
0,689	0,819	0,833	1,029	0,868	0,038	aditivita
0,782	0,880	0,809	0,996	0,831	0,004	rozdíl
0,885	0,940	0,820	1,063	0,835	0,002	rozdíl
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.2.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity $\Sigma c_g'$

R_{benzen}	R'_{benzen}	c_g' benzen	c_g' anilin	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,998	aditivita
0,049	0,095	0,055	0,898	0,953	0,000	rozdíl
0,093	0,173	0,116	0,723	0,839	0,000	rozdíl
0,146	0,258	0,159	0,663	0,822	0,000	rozdíl
0,204	0,343	0,246	0,528	0,775	0,000	rozdíl
0,279	0,441	0,317	0,541	0,858	0,000	rozdíl
0,359	0,533	0,284	0,359	0,644	0,000	rozdíl
0,483	0,655	0,394	0,336	0,730	0,000	rozdíl
0,578	0,736	0,465	0,230	0,695	0,000	rozdíl
0,689	0,819	0,612	0,168	0,780	0,001	rozdíl
0,782	0,880	0,598	0,101	0,699	0,000	rozdíl
0,885	0,940	0,736	0,061	0,796	0,000	rozdíl
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.2.3. Porovnání hodnot K_{mix} a EC50

R_{benzen}	R'_{benzen}	EC50'	K_{mix}	P (EC50' = K_{mix})	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	stejnost
0,049	0,095	1,097	0,868	0,000	rozdíl
0,093	0,173	0,964	0,872	0,098	stejnost
0,146	0,258	1,008	0,815	0,000	rozdíl
0,204	0,343	0,972	0,796	0,005	rozdíl
0,279	0,441	1,019	0,842	0,000	rozdíl
0,359	0,533	0,842	0,766	0,123	stejnost
0,483	0,655	0,940	0,777	0,000	rozdíl
0,578	0,736	0,847	0,821	0,705	stejnost
0,689	0,819	0,868	0,896	0,692	stejnost
0,782	0,880	0,831	0,840	0,884	stejnost
0,885	0,940	0,835	0,954	0,067	stejnost
1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	stejnost

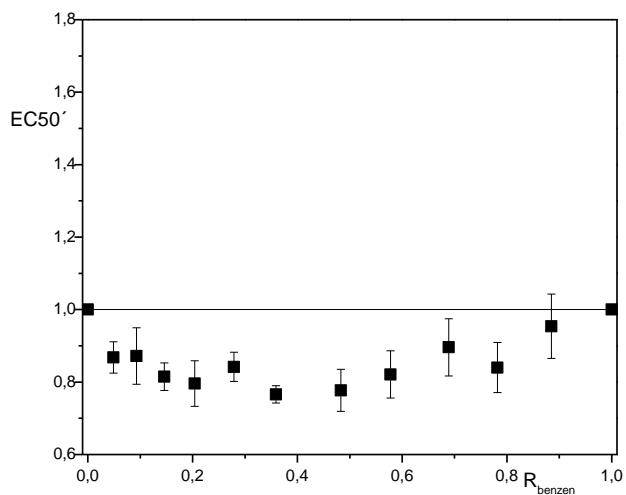
Chování směsi benzen-anilin se od aditivity neliší tak dramaticky jako u směsi benzen-ethanol. Hodnota c_g'/c_l' benzenu se v celém rozsahu R_{benzen} liší od aditivity, naproti tomu rozdělovací koeficient anilinu je aditivní v téměř celém rozsahu R_{benzen} . Liší se pouze u dvou měřených roztoků (grafy 5.1.2.5. a 5.1.2.6.).

Hodnoty $\Sigma c_g'$ jsou významně odlišné od aditivity (graf 5.1.2.9.), po započtení vlivu koncentrace v kapalně fázi se však rozdíl značně snižují. Přesto lze pozorovat statisticky významné odchylky hodnot K_{mix} od aditivity (graf 5.1.2.3.). Odchylky jsou opět způsobeny zejména chováním benzenu. Dobře je to vidět například u $R_{benzen} = 0,782$ a $0,885$.

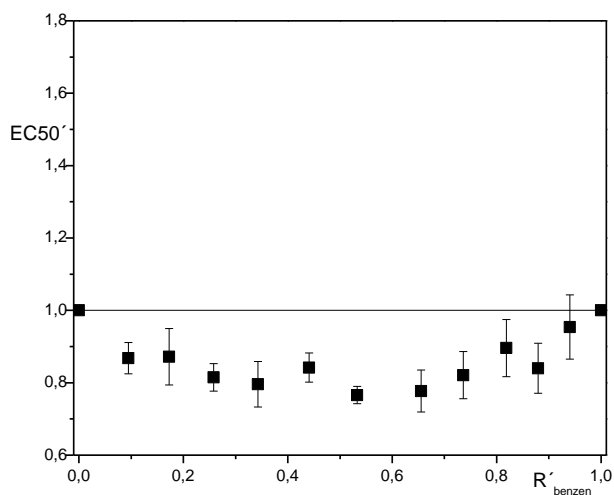
V této směsi se vlastnosti látek ovlivňují jen málo.

Příspěvky chemikálií k akutní toxicitě měřené jako EC50 nejsou aditivní v celém rozsahu molárních zlomků. Hodnota K_{mix} je s EC50' významně shodná zejména u vyšších R_{benzen} (grafy 5.1.2.1. a 5.1.2.3.). Žádnou zákonitost ve významnosti odchylek nebo shody s aditivním chováním mezi směsmi s různými poměry složek ve směsi však nelze vysledovat.

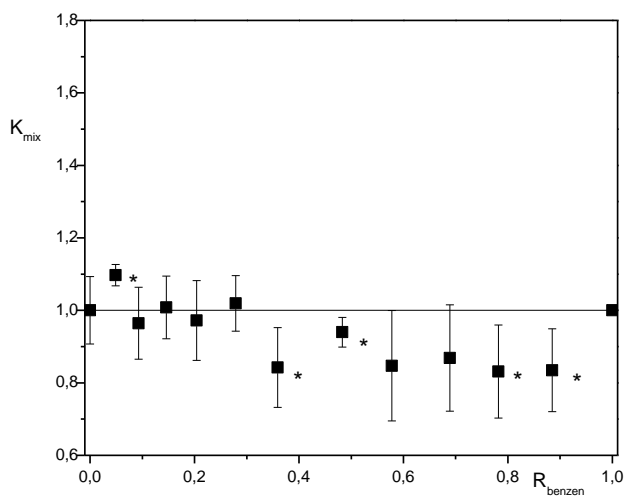
Graf 5.1.2.1. Směs benzen - anilin: závislost EC50' na R_{benzen}



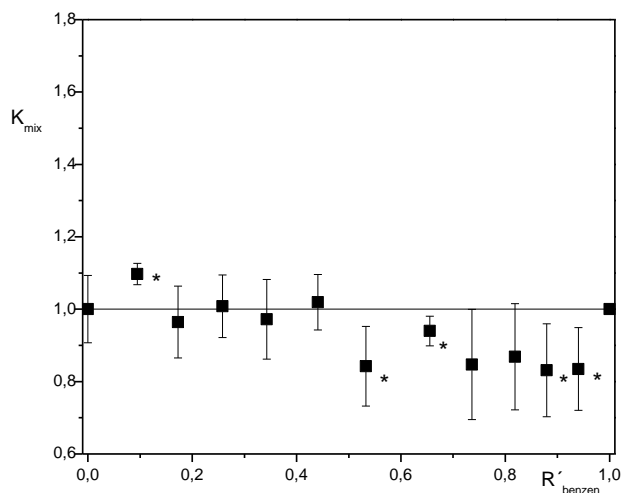
Graf 5.1.2.2. Směs benzen - anilin: závislost EC50' na R'_{benzen}



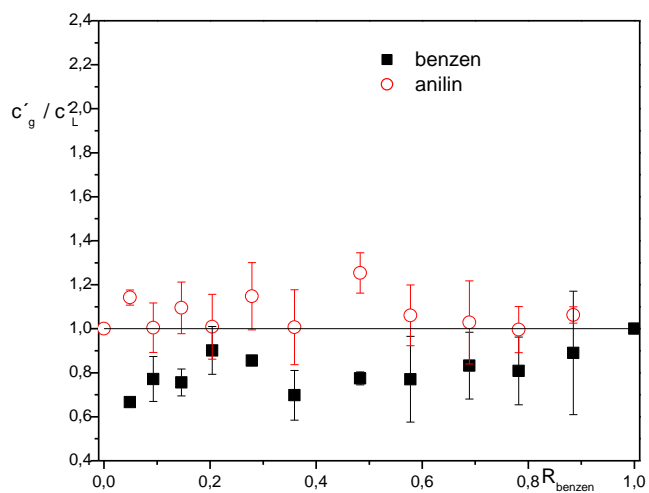
Graf 5.1.2.3. Směs benzen - anilin: závislost K_{mix} na R_{benzen}



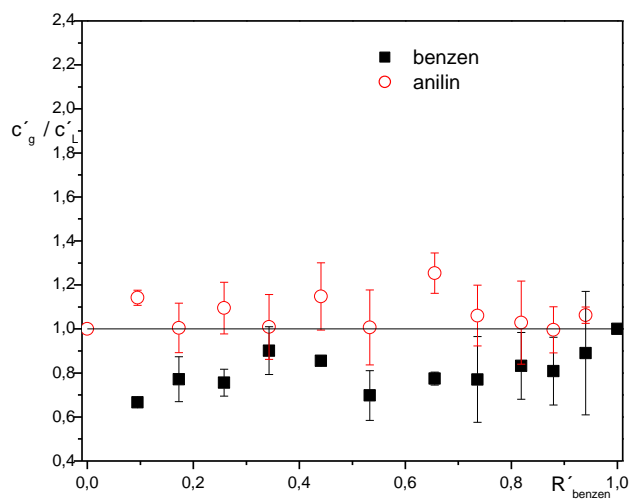
Graf 5.1.2.4. Směs benzen - anilin: závislost K_{mix} na R_{benzen}



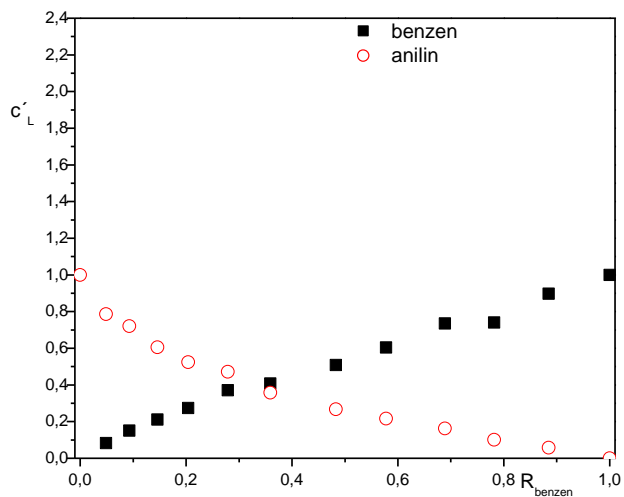
Graf 5.1.2.5. Směs benzen - anilin: závislost c'_g/c'_l na R_{benzen}



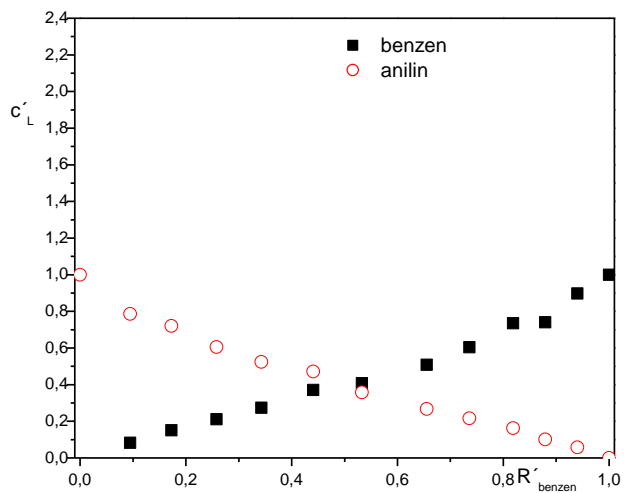
Graf 5.1.2.6. Směs benzen - anilin: závislost c'_g/c'_l na R'_{benzen}



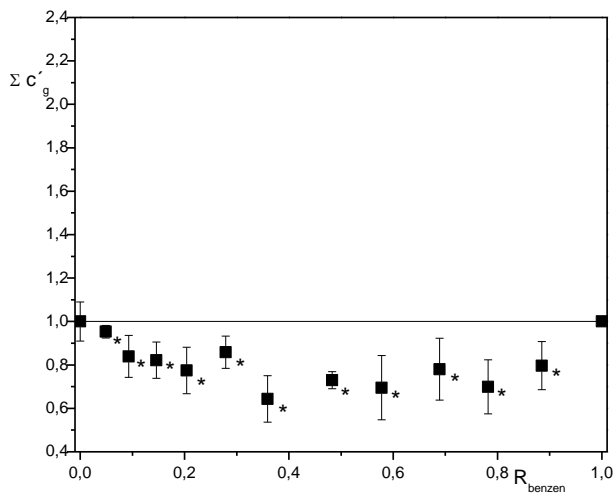
Graf 5.1.2.7. Směs benzen - anilin: závislost c'_1 na R_{benzen}



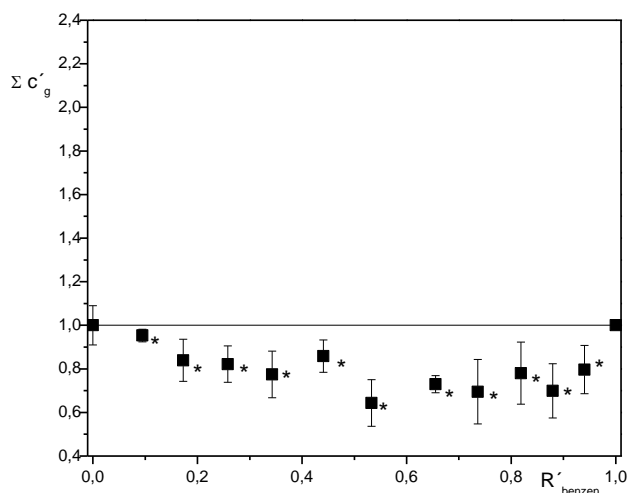
Graf 5.1.2.8. Směs benzen - anilin: závislost c'_1 na R'_{benzen}



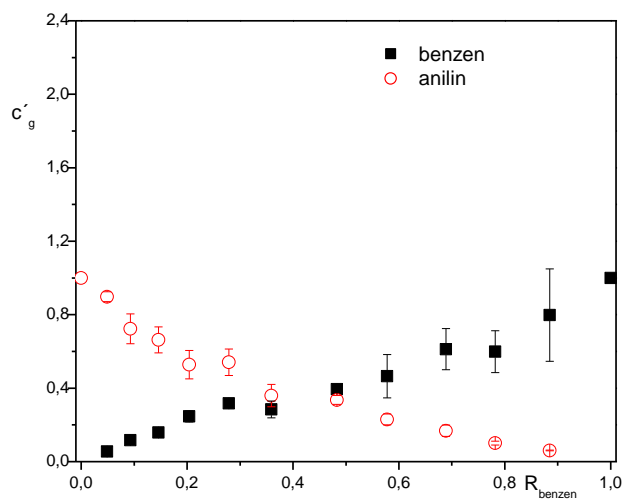
Graf 5.1.2.9. Směs benzen - anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{benzen}



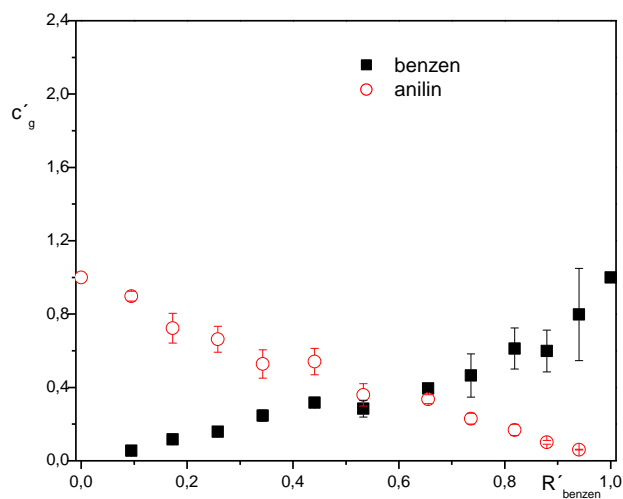
Graf 5.1.2.10. Směs benzen - anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na R'_{benzen}



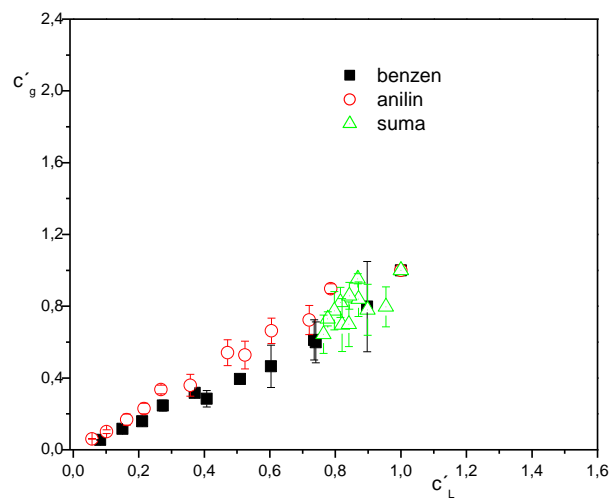
Graf 5.1.2.11. Směs benzen - anilin: závislost c'_g na R_{benzen}



Graf 5.1.2.12. Směs benzen - anilin: závislost c'_g na R'_{benzen}



Graf 5.1.2.13. Směs benzen - anilin: závislost c'_g na c'_l



5.1.3. Benzen – nitrobenzen

Tab. 5.1.3.1. Hodnoty K_{mix} , rozdělovací koeficienty jednotlivých látek, výsledky testu aditivity K_{mix}

R_{benzen}	R'_{benzen}	c_g'/c_i' benzen	c_g'/c_i' nitrobenzen	K_{mix}	$P(K_{mix} = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,393	0,113	0,750	0,953	0,930	0,000	rozdíl
0,598	0,226	0,779	1,029	0,973	0,635	aditivita
0,723	0,339	0,753	0,979	0,902	0,000	rozdíl
0,800	0,440	0,747	0,975	0,875	0,002	rozdíl
0,860	0,547	0,795	0,985	0,881	0,000	rozdíl
0,907	0,657	0,934	1,137	1,003	0,866	aditivita
0,944	0,768	1,057	1,092	1,065	0,000	rozdíl
0,974	0,880	0,973	1,187	0,999	0,912	aditivita
0,987	0,937	0,922	1,352	0,949	0,000	rozdíl
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.3.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity $\Sigma c_g'$

R_{benzen}	R'_{benzen}	c_g' benzen	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,393	0,113	0,078	0,776	0,854	0,000	rozdíl
0,598	0,226	0,150	0,677	0,827	0,005	aditivita
0,723	0,339	0,224	0,567	0,790	0,000	rozdíl
0,800	0,440	0,264	0,439	0,703	0,000	rozdíl
0,860	0,547	0,345	0,354	0,699	0,000	rozdíl
0,907	0,657	0,495	0,315	0,810	0,000	rozdíl
0,944	0,768	0,601	0,188	0,789	0,000	rozdíl
0,974	0,880	0,554	0,092	0,646	0,000	rozdíl
0,987	0,937	0,528	0,052	0,580	0,000	rozdíl
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.3.3. Porovnání hodnot K_{mix} a $EC50'$

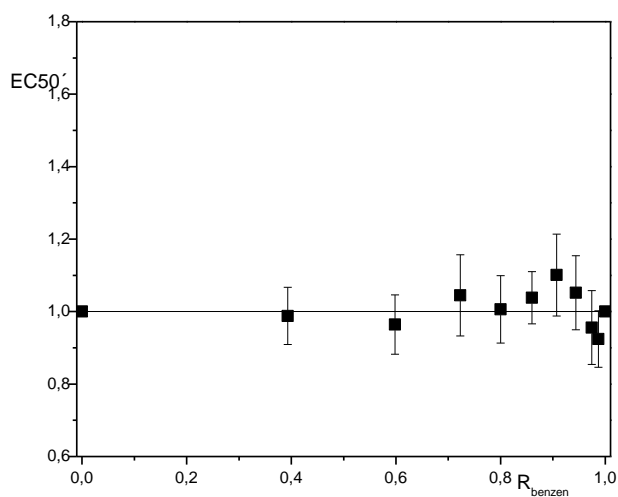
R_{benzen}	R'_{benzen}	$EC50'$	K_{mix}	$P(EC50' = K_{mix})$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	stejnost
0,393	0,113	0,930	0,988	0,113	stejnost
0,598	0,226	0,973	0,964	0,898	stejnost
0,723	0,339	0,902	1,045	0,017	rozdíl
0,800	0,440	0,875	1,006	0,026	rozdíl
0,860	0,547	0,881	1,038	0,000	rozdíl
0,907	0,657	1,003	1,101	0,074	stejnost
0,944	0,768	1,065	1,052	0,767	stejnost
0,974	0,880	0,999	0,956	0,342	stejnost
0,987	0,937	0,949	0,924	0,457	stejnost
1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	stejnost

Směs benzen-nitrobenzen je příkladem aditivního chování EC_{50}' (graf 5.1.3.1.). U parametru K_{mix} je aditivní chování opět sporné. Důvodem jsou nejspíše nejednotné experimentální podmínky při analýze a rozdílné rozptyly jednotlivých údajů. Při rozdílech, o které patrně jde, je ale získání dostatečně přesných údajů obtížné. Přesto R-graf pro K_{mix} (graf 5.1.3.3.) téměř sleduje R-graf pro EC_{50} , podobnost je statisticky významná pro většinu měřených roztoků. Výjimku tvoří směsi s R_{benzen} 0,72 až 0,86.

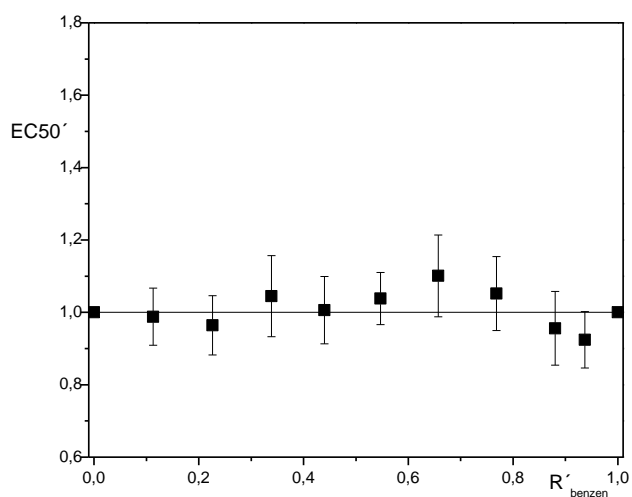
Hodnoty $\Sigma c_g'$ se významně liší od aditivity v téměř všech bodech, hodnoty klesají až k 0,6 (graf 5.1.3.9.). Po započtení vlivu koncentrace v kapalně fázi se však odchylky od aditivity zmenší (graf 5.1.3.3.). Je to patrné zejména pro $R_{benzen} > 0,944$, zde je zřejmý vliv nitrobenzenu. Při hodnotách R_{benzen} blízcích se 1 nitrobenzen vykazuje odchylku k vyšším hodnotám (graf 5.1.3.5.). Při nižším R_{benzen} je naopak možné v grafu závislosti c_g'/c_l' na R_{benzen} pozorovat záporné odchylky benzenu. S výjimkou vyšších R_{benzen} má závislost c_g'/c_l' na R_{benzen} podobný průběh pro nitrobenzen i benzen, v hodnotách se však liší.

U této směsi nelze usuzovat na vyšší vliv jedné ze složek. S průběhem R_{benzen} se zřejmě mění vliv jednotlivých látek.

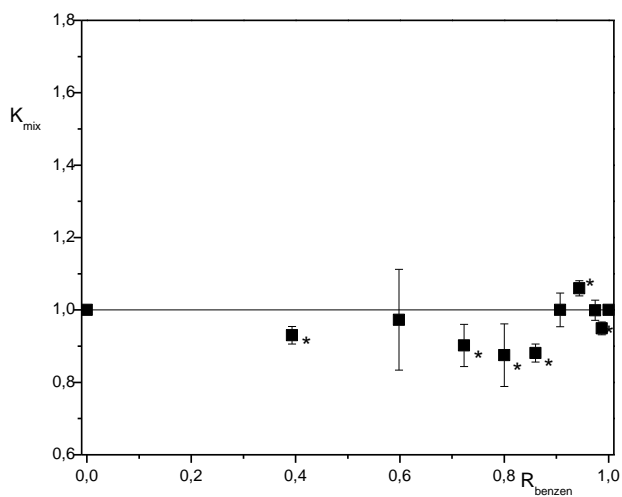
Graf 5.1.3.1. Směs benzen - nitrobenzen: závislost EC_{50}' na R_{benzen}



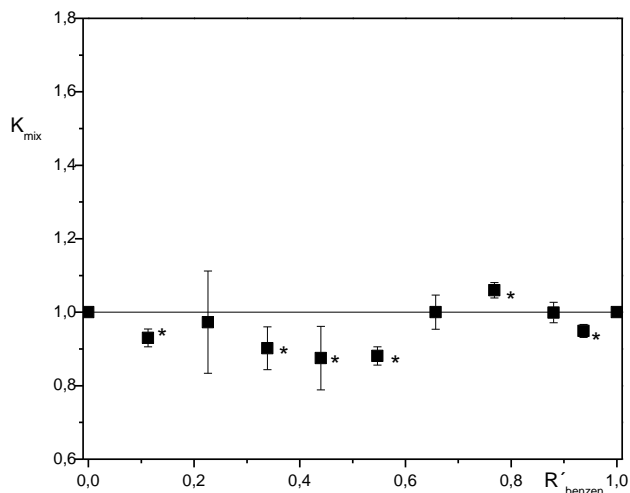
Graf 5.1.3.2. Směs benzen - nitrobenzen: závislost EC_{50}' na R'_{benzen}



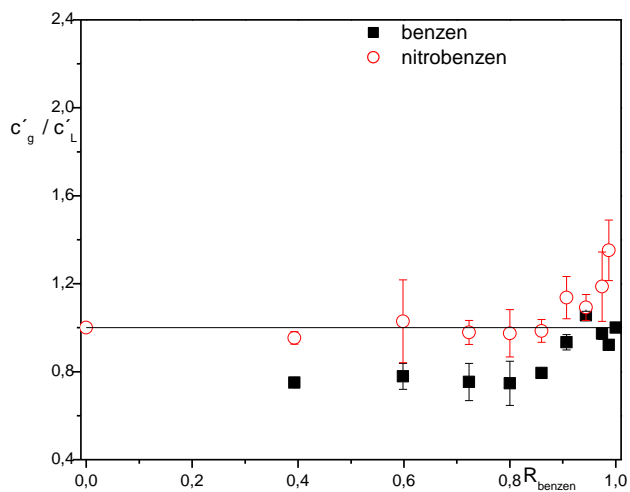
Graf 5.1.3.3. Směs benzen - nitrobenzen: závislost K_{mix} na R_{benzen}



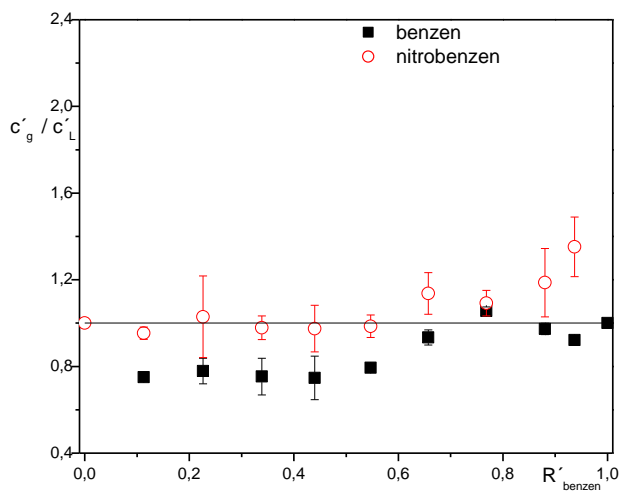
Graf 5.1.3.4. Směs benzen - nitrobenzen: závislost K_{mix} na R'_{benzen}



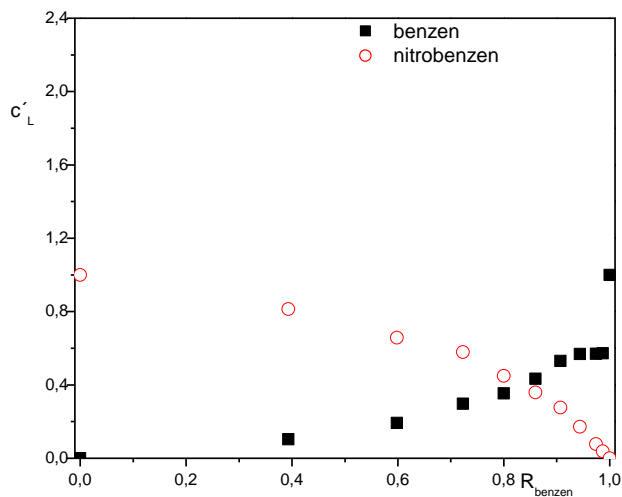
Graf 5.1.3.5. Směs benzen - nitrobenzen: závislost c'_g/c'_l na R_{benzen}



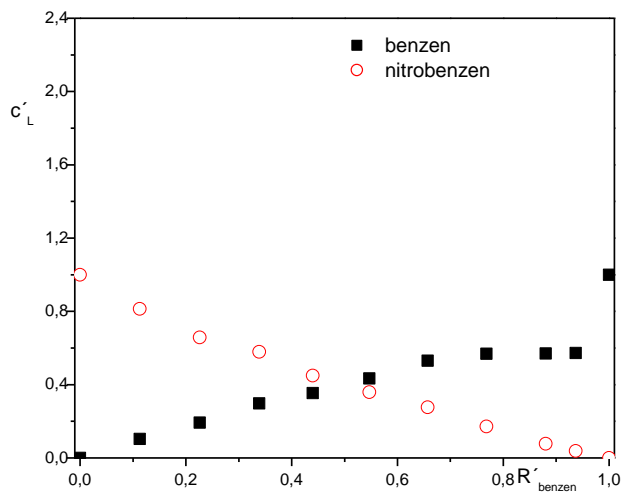
Graf 5.1.3.6. Směs benzen - nitrobenzen: závislost c'_g/c'_l na R'_{benzen}



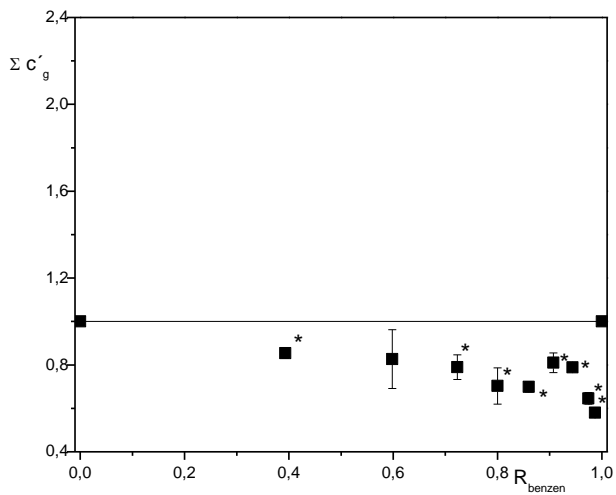
Graf 5.1.3.7. Směs benzen - nitrobenzen: závislost c'_l na R_{benzen}



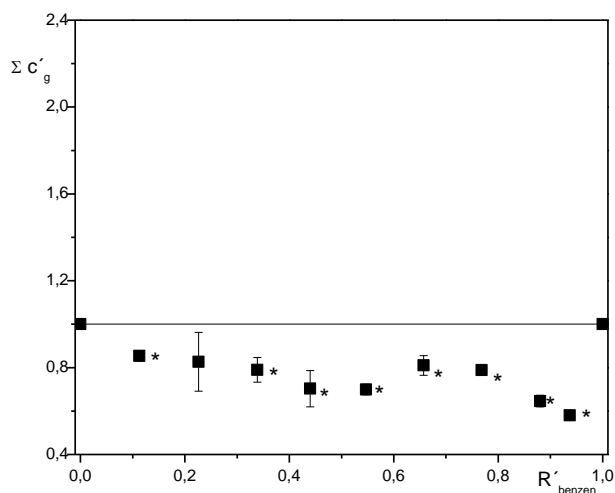
Graf 5.1.3.8. Směs benzen - nitrobenzen: závislost c'_l na R'_{benzen}



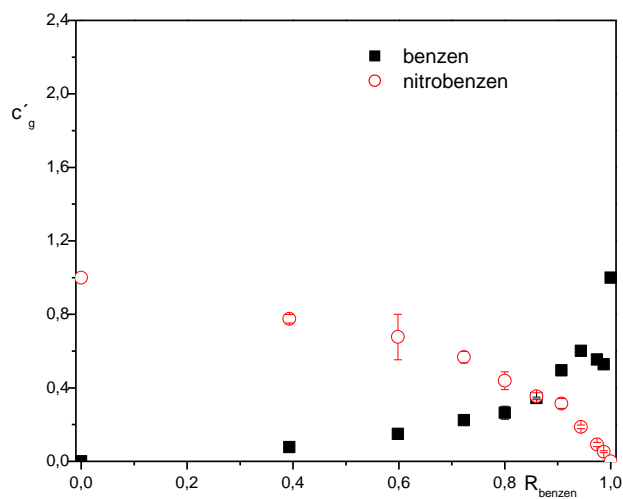
Graf 5.1.3.9. Směs benzen - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{benzen}



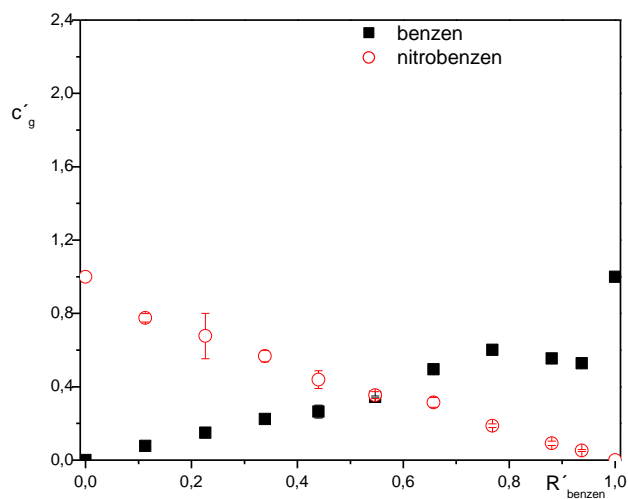
Graf 5.1.3.10. Směs benzen - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R'_{benzen}



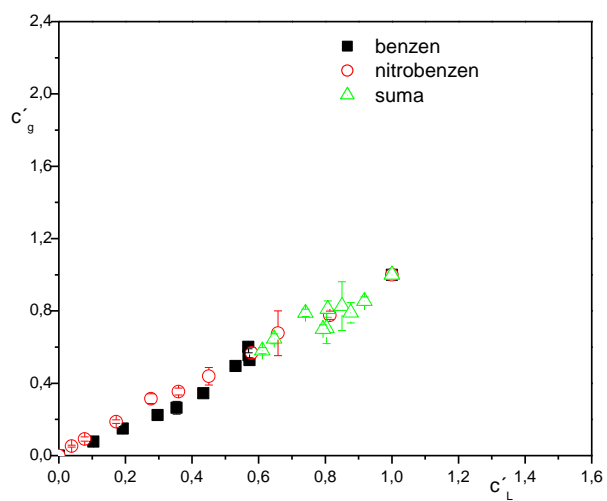
Graf 5.1.3.11. Směs benzen - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{benzen}



Graf 5.1.3.12. Směs benzen - nitrobenzen: závislost c'_g na R'_{benzen}



Graf 5.1.3.13. Směs benzen - nitrobenzen: závislost c'_g na c'_L



5.1.4. Anilin – nitrobenzen

Tab. 5.1.4.1. Hodnoty K_{mix} , rozdělovací koeficienty jednotlivých látek, výsledky testu aditivity K_{mix}

R_{anilin}	R'_{anilin}	c_g'/c_l' anilin	c_g'/c_l' nitrobenzen	K_{mix}	$P(K_{mix} = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,554	0,116	1,129	0,884	0,912	0,000	rozdíl
0,738	0,232	1,052	0,871	0,916	0,005	aditivita
0,827	0,335	1,034	0,855	0,916	0,000	rozdíl
0,882	0,441	1,031	0,934	0,977	0,590	aditivita
0,918	0,538	1,057	0,891	0,976	0,502	aditivita
0,944	0,638	1,053	0,892	0,989	0,595	aditivita
0,963	0,731	0,863	0,676	0,810	0,000	rozdíl
0,978	0,825	0,941	0,738	0,902	0,000	rozdíl
0,990	0,912	1,015	1,007	1,015	0,667	aditivita
1,000	1,000	1,001	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.4.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity $\Sigma c_g'$

R_{anilin}	R'_{anilin}	c_g' anilin	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,554	0,116	0,130	0,781	0,911	0,000	rozdíl
0,738	0,232	0,223	0,612	0,835	0,000	rozdíl
0,827	0,335	0,344	0,564	0,909	0,000	rozdíl
0,882	0,441	0,427	0,489	0,915	0,048	aditivita
0,918	0,538	0,512	0,370	0,882	0,003	rozdíl
0,944	0,638	0,585	0,281	0,866	0,000	rozdíl
0,963	0,731	0,610	0,175	0,785	0,000	rozdíl
0,978	0,825	0,751	0,125	0,876	0,000	rozdíl
0,990	0,912	0,912	0,086	0,999	0,968	aditivita
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.4.3. Porovnání hodnot K_{mix} a EC50

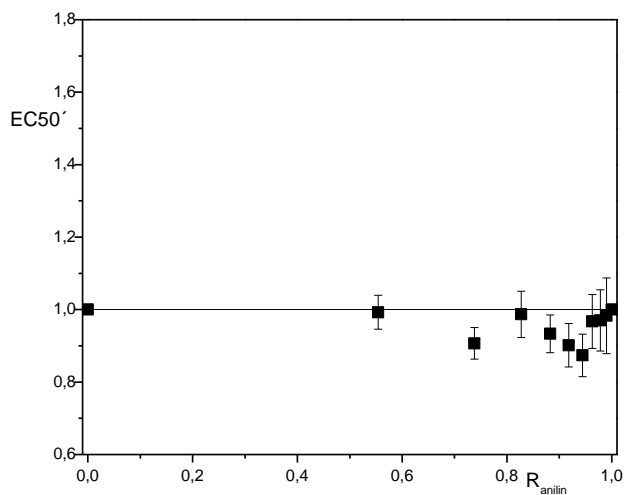
R_{anilin}	R'_{anilin}	EC50'	K_{mix}	$P(EC50' = K_{mix})$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	stejnost
0,554	0,116	0,993	0,912	0,002	rozdíl
0,738	0,232	0,907	0,916	0,769	stejnost
0,827	0,335	0,987	0,916	0,038	rozdíl
0,882	0,441	0,933	0,977	0,364	stejnost
0,918	0,538	0,902	0,976	0,113	stejnost
0,944	0,638	0,874	0,989	0,003	rozdíl
0,963	0,731	0,967	0,810	0,001	rozdíl
0,978	0,825	0,970	0,902	0,078	stejnost
0,990	0,912	0,983	1,015	0,568	stejnost
1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	stejnost

U směsi anilin – nitrobenzen je parametr $\Sigma c_g'$ odlišný od aditivity v téměř celém rozsahu R'_{anilin} , dosahuje nejnižší hodnoty 0,79 (graf 5.1.4.10.). Zřejmě je to způsobeno nízkými rozptyly měření. Po započtení vlivu koncentrace v kapalně fázi se odchylky výrazně zmenší (graf 5.1.4.4.). Parametr K_{mix} se od aditivity odchyluje ve čtyřech bodech. U dvou bodů je odchylka výrazná, pohled na závislost cg'/cl' na R'_{anilin} ukáže odchylku u nitrobenzenu i anilinu (R'_{anilin} 0,731 a 0,825). Ve většině případů má na odchylkách $\Sigma c_g'$ a K_{mix} zřejmě větší podíl nitrobenzen, jak je vidět v grafu 5.1.4.6. Pro $R'_{\text{anilin}} = 0,116$ K_{mix} projevuje odchylku od aditivity i přes vzájemné působení anilinu a nitrobenzenu.

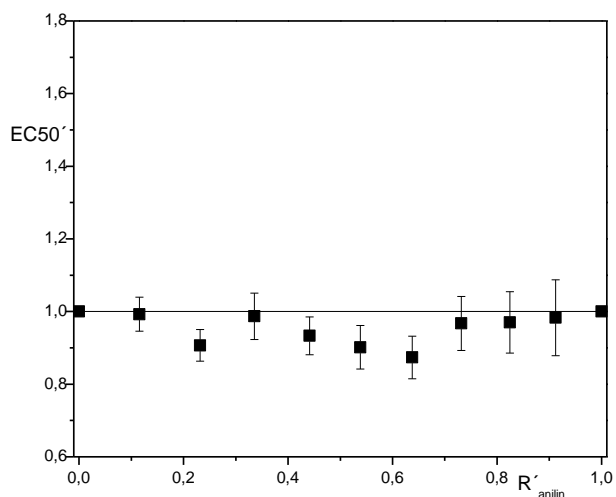
Hodnoty $EC50'$ se s hodnotami K_{mix} statisticky významně shodují v polovině bodů závislosti na R'_{anilin} . Chování $EC50'$ je u směsi anilin-nitrobenzen aditivní s výjimkou čtyř koncentrací použitých v experimentu, K_{mix} se od aditivity liší ve stejném počtu případů. Složení směsí, pro které jsou $EC50'$ a K_{mix} neaditivní je však rozdílné. Jedinou shodu lze najít u $R'_{\text{anilin}} = 0,232$.

Při statistickém porovnání se prokazují odchylky $EC50'$ od K_{mix} u poloviny směsí použitých v experimentu. U poloviny koncentrací prokazují významnou shodu. Pro tuto směs nelze přesně určit, zda jsou průběhy závislosti $EC50'$ a K_{mix} na R'_{anilin} podobné.

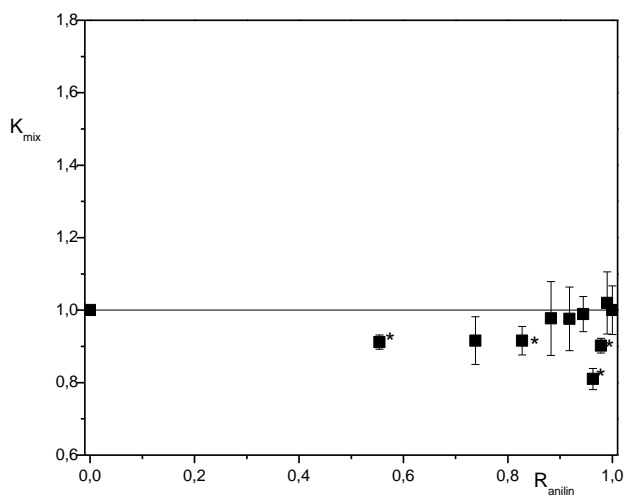
Graf 5.1.4.1. Směs anilin - nitrobenzen: závislost EC_{50}' na R_{anilin}



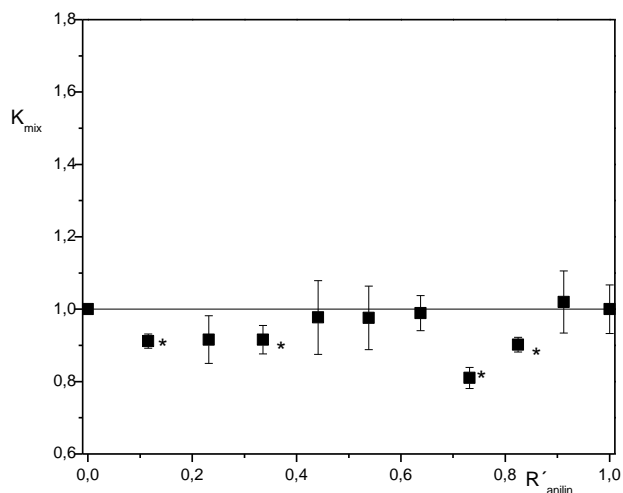
Graf 5.1.4.2. Směs anilin - nitrobenzen: závislost EC_{50}' na R'_{anilin}



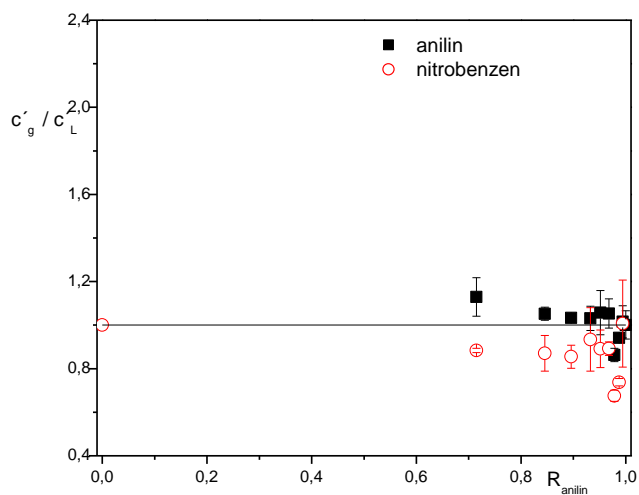
Graf 5.1.4.3. Směs anilin - nitrobenzen: závislost K_{mix} na R_{anilin}



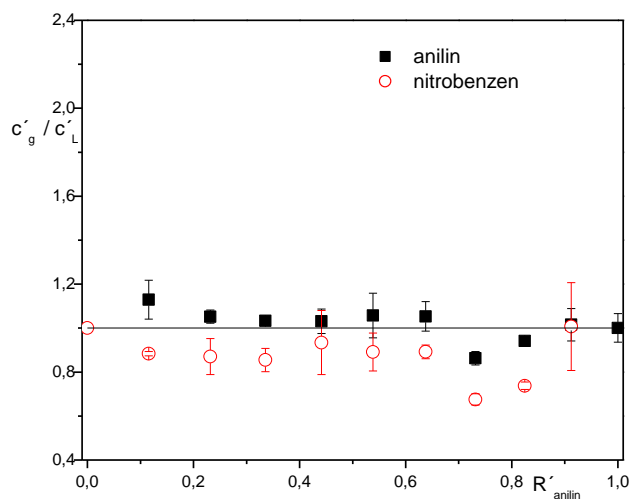
Graf 5.1.4.4. Směs anilin - nitrobenzen: závislost K_{mix} na R'_{anilin}



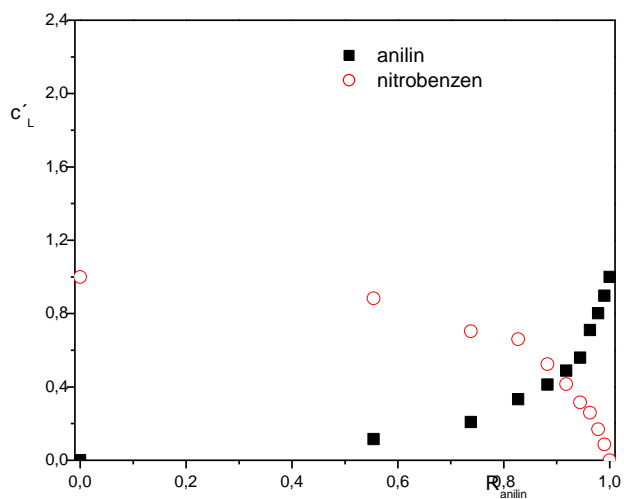
Graf 5.1.4.5. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g/c'_l na R_{anilin}



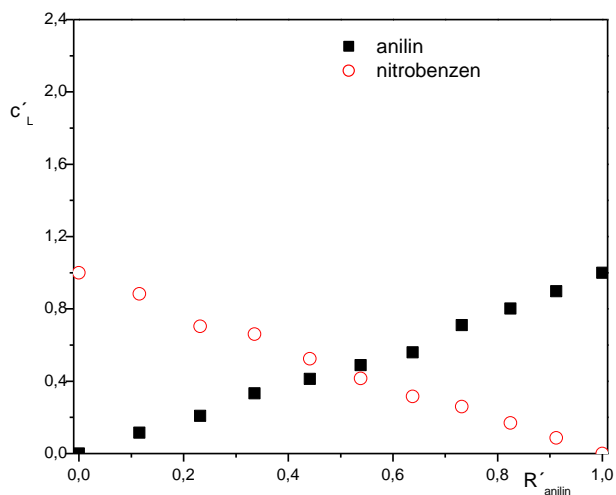
Graf 5.1.4.6. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g/c'_l na R'_{anilin}



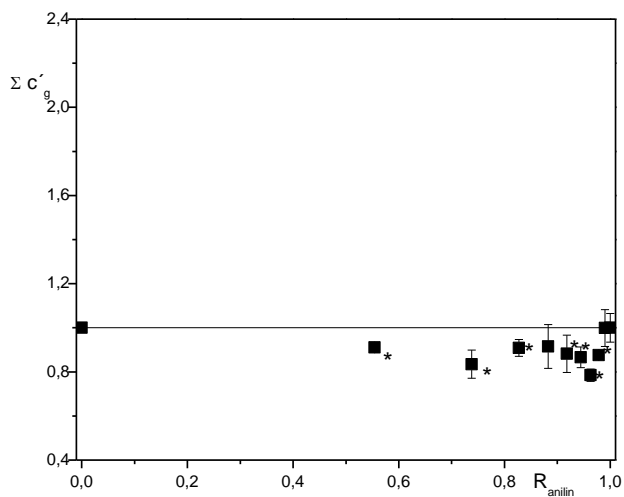
Graf 5.1.4.7. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_l na R_{anilin}



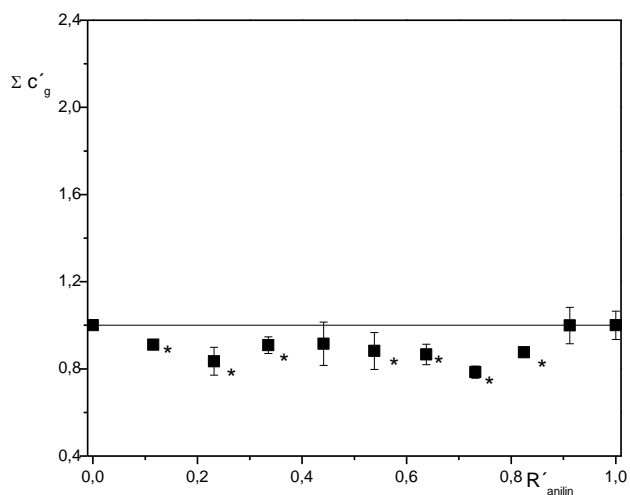
Graf 5.1.4.8. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_l na R'_{anilin}



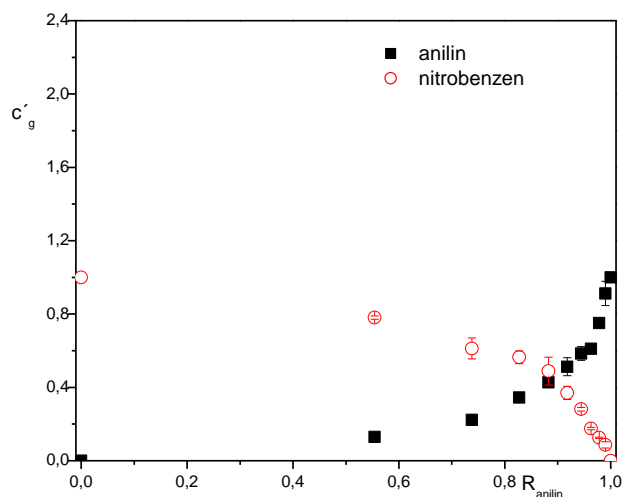
Graf 5.1.4.9. Směs anilin - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{anilin}



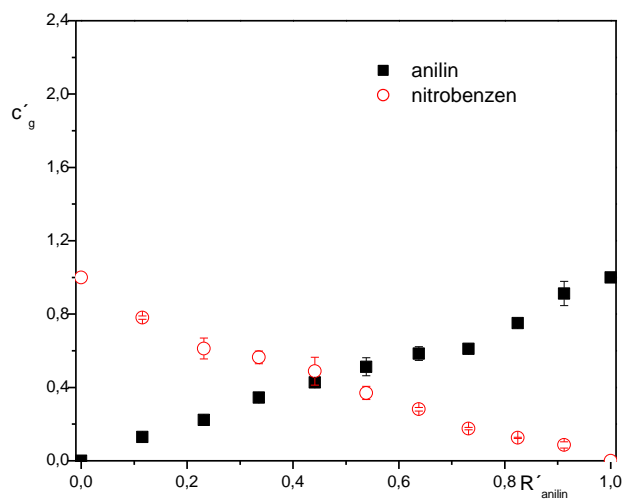
Graf 5.1.4.10. Směs anilin - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R'_{anilin}



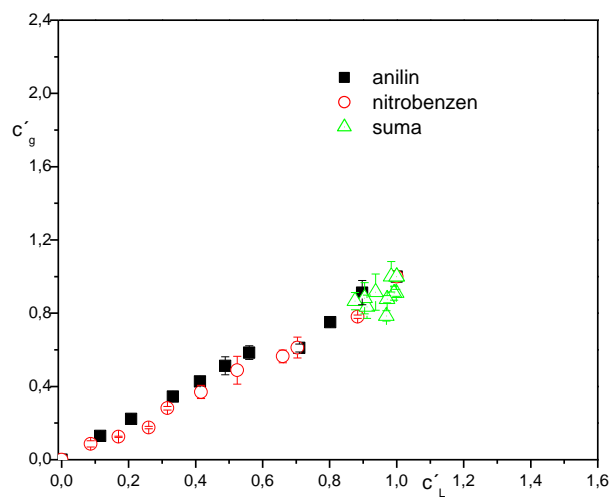
Graf 5.1.4.11. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{anilin}



Graf 5.1.4.12. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na R'_{anilin}



Graf 5.1.4.13. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na c'_l



5.1.5. Ethanol – nitrobenzen

Tab 5.1.5.1. Hodnoty K_{mix} , rozdělovací koeficienty jednotlivých látek, výsledky testu aditivity K_{mix}

$R_{ethanol}$	$R'_{ethanol}$	c_g'/c_l' ethanol	c_g'/c_l' nitrobenzen	K_{mix}	$P(K_{mix} = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,924	0,075	1,040	0,901	0,911	0,239	aditivita
0,964	0,150	1,079	0,941	0,961	0,528	aditivita
0,977	0,224	1,003	0,764	0,818	0,002	rozdíl
0,984	0,295	1,046	0,807	0,878	0,092	aditivita
0,989	0,367	1,037	0,835	0,909	0,026	aditivita
0,992	0,439	1,080	0,885	0,970	0,719	aditivita
0,994	0,511	1,047	0,809	0,931	0,159	aditivita
0,995	0,583	0,881	0,800	0,847	0,043	aditivita
0,996	0,609	0,966	0,917	0,947	0,260	aditivita
0,997	0,723	0,967	0,879	0,942	0,430	aditivita
0,998	0,793	0,889	1,163	0,946	0,423	aditivita
0,999	0,851	0,951	1,086	0,971	0,722	aditivita
1,000	0,932	0,954	0,750	0,940	0,024	aditivita
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab 5.1.5.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity $\Sigma c_g'$

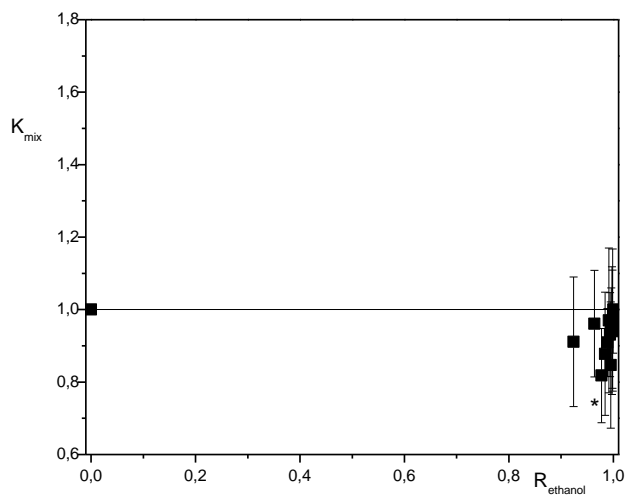
$R_{ethanol}$	$R'_{ethanol}$	c_g' ethanol	c_g' niben	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,924	0,075	0,082	0,880	0,962	0,590	aditivita
0,964	0,150	0,164	0,812	0,976	0,677	aditivita
0,977	0,224	0,233	0,616	0,849	0,007	rozdíl
0,984	0,295	0,404	0,744	1,148	0,036	aditivita
0,989	0,367	0,455	0,632	1,087	0,025	aditivita
0,992	0,439	0,535	0,560	1,096	0,231	aditivita
0,994	0,511	0,636	0,470	1,106	0,029	aditivita
0,995	0,583	0,613	0,398	1,011	0,873	aditivita
0,996	0,609	0,673	0,409	1,082	0,076	aditivita
0,997	0,723	0,824	0,286	1,110	0,123	aditivita
0,998	0,793	0,836	0,286	1,122	0,067	aditivita
0,999	0,851	0,897	0,179	1,076	0,329	aditivita
1,000	0,932	0,978	0,056	1,035	0,155	aditivita
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Směs ethanol nitrobenzen nebyla měřena na základě dat EC50, ale v koncentracích odpovídajících průběhu R s krajními body na úrovni EC50 jednotlivých látek směsi. Měření bylo provedeno v rozsahu koncentrací dle R_{ethanol} . V čase měření této práce dosud hodnoty EC50 směsi ethanol – nitrobenzen nebyly naměřeny.

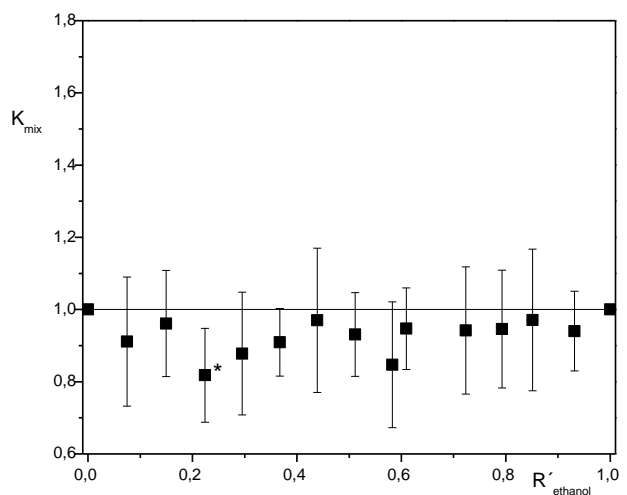
Parametr K_{mix} je aditivní s výjimkou jediného bodu (graf 5.1.5.2.). Hodnota $\Sigma c_g'$ vykazuje odchylku v témže bodě ($R'_{\text{ethanol}} = 0,224$), jinak je aditivní v celém rozsahu R_{ethanol} (graf 5.1.5.8.). Hodnoty c_g'/c_1' pro ethanol nevykazují odchylky, u nitrobenzenu je variace odchylek větší, což lze pozorovat v grafu 5.1.5.4. Odchylka nitrobenzenu je záporná v celém rozsahu R'_{ethanol} , s výjimkou $R'_{\text{ethanol}} = 0,793$ a $0,851$, kde má c_g'/c_1' hodnotu větší než jedna.

U této směsi je zřejmý vliv koncentrace v kapalně fázi. V tomto případě nelze rozhodnout, zda je odchylka v jediném bodě způsobena experimentální chybou nebo ovlivněním složek směsi. Na základě výsledků není možné odhadnout, jak se bude měnit akutní toxicita této směsi v závislosti na jejím složení.

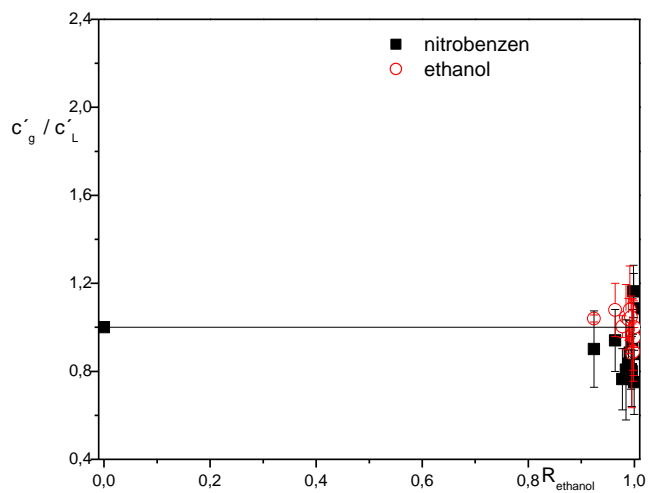
Graf 5.1.5.1. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost K_{mix} na $R_{ethanol}$



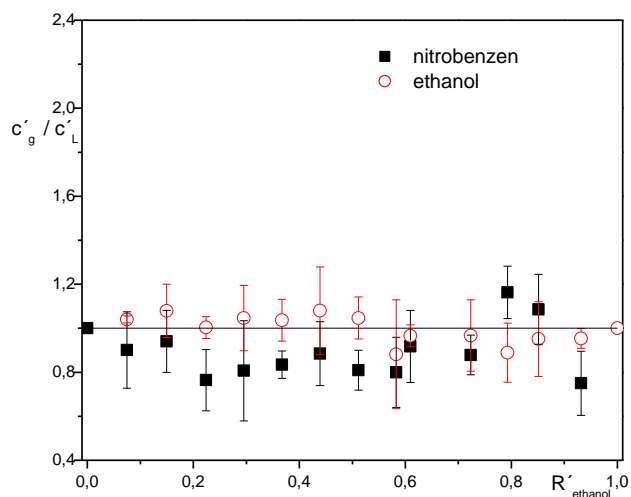
Graf 5.1.5.2. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost K_{mix} na $R'_{ethanol}$



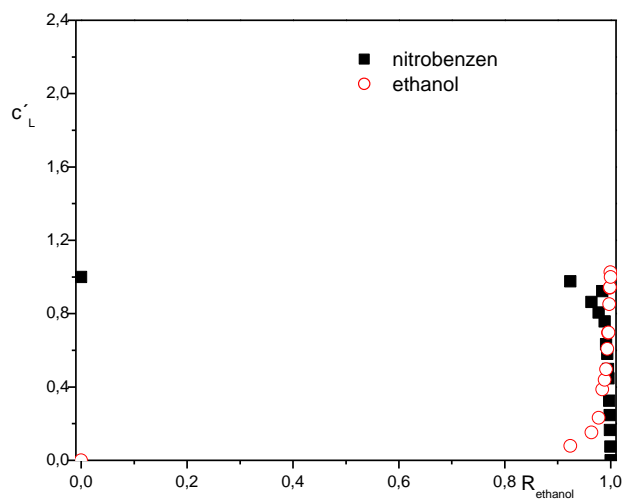
Graf 5.1.5.3. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost c'_g/c'_l na $R_{ethanol}$



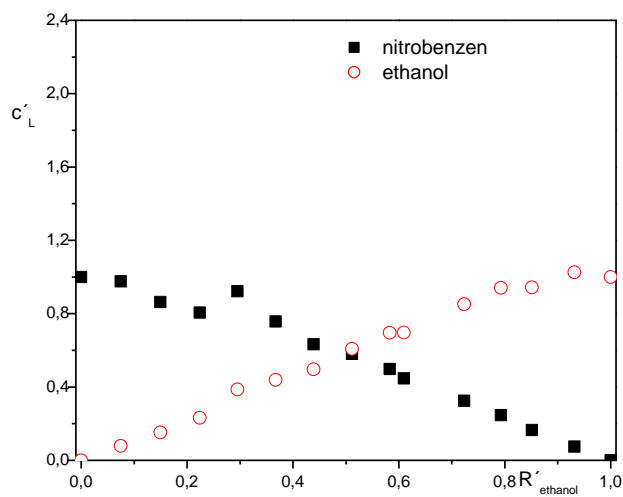
Graf 5.1.5.4. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost c'_g/c'_1 na $R'_{ethanol}$



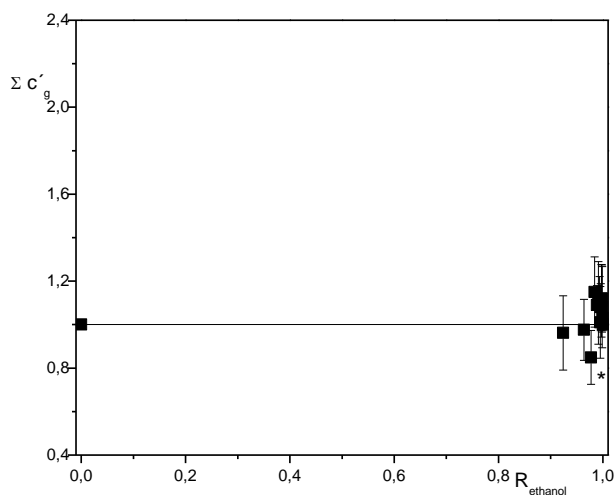
Graf 5.1.5.5. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost c'_1 na $R'_{ethanol}$



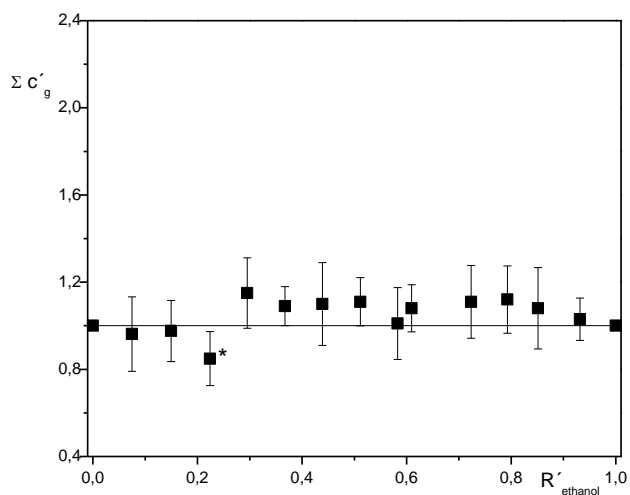
Graf 5.1.5.6. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost c'_1 na $R'_{ethanol}$



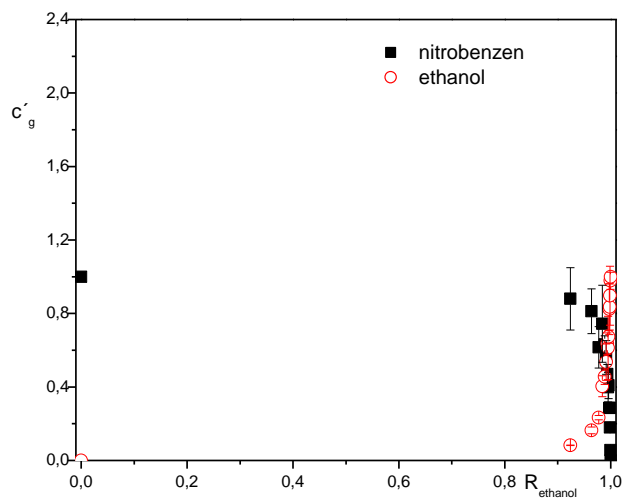
Graf 5.1.5.7. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{ethanol}



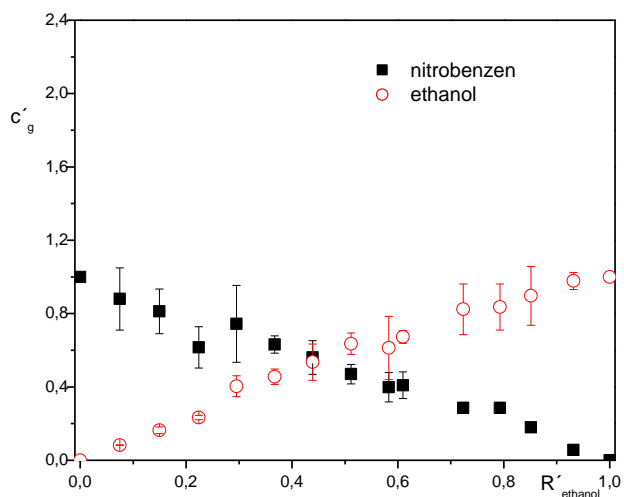
Graf 5.1.5.8. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R'_{ethanol}



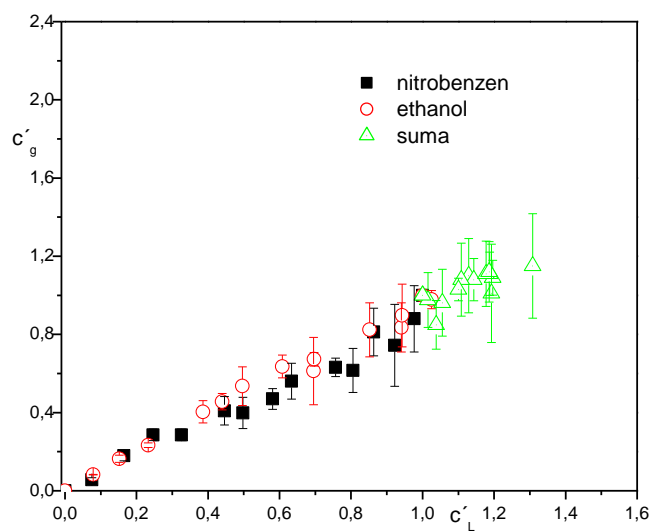
Graf 5.1.5.9. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{ethanol}



Graf 5.1.5.10. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost c'_g na R'_{ethanol}



Graf 5.1.5.11. Směs ethanol - nitrobenzen: závislost c'_g na c'_l



5.1.6. Ethanol – anilin

Tab. 5.1.6.1. Hodnoty K_{mix} , rozdělovací koeficienty jednotlivých látek, výsledky testu aditivity K_{mix}

$R_{ethanol}$	$R'_{ethanol}$	c_g'/c_l' ethanol	c_g'/c_l' anilin	K_{mix}	$P(K_{mix} = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,715	0,112	0,787	1,103	1,023	0,449	aditivita
0,845	0,216	0,928	1,157	1,070	0,004	rozdíl
0,896	0,301	1,000	1,152	1,111	0,000	rozdíl
0,932	0,410	0,947	1,097	1,034	0,315	aditivita
0,951	0,496	0,947	1,042	0,996	0,798	aditivita
0,968	0,602	0,982	1,013	0,993	0,853	aditivita
0,978	0,695	0,969	0,987	0,980	0,509	aditivita
0,988	0,799	0,927	1,045	1,010	0,455	aditivita
0,994	0,897	0,982	0,954	0,979	0,011	aditivita
1,000	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.6.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity $\Sigma c_g'$

$R_{ethanol}$	$R'_{ethanol}$	c_g' ethanol	c_g' anilin	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,715	0,112	0,115	1,017	1,132	0,000	rozdíl
0,845	0,216	0,226	0,888	1,115	0,000	rozdíl
0,896	0,301	0,295	0,791	1,086	0,003	rozdíl
0,932	0,410	0,418	0,696	1,115	0,002	rozdíl
0,951	0,496	0,566	0,634	1,200	0,000	rozdíl
0,968	0,602	0,695	0,473	1,168	0,000	rozdíl
0,978	0,695	0,843	0,384	1,226	0,000	rozdíl
0,988	0,799	0,742	0,195	0,937	0,000	rozdíl
0,994	0,897	0,934	0,104	1,039	0,000	rozdíl
1,000	1,000	1,000	0,0000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.1.6.3. Porovnání hodnot K_{mix} a $EC50'$

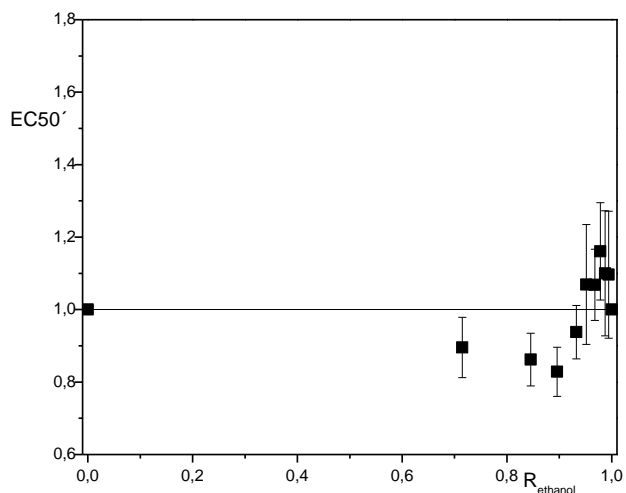
$R_{ethanol}$	$R'_{ethanol}$	$EC50'$	K_{mix}	$P (EC50' = K_{mix})$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,715	0,112	0,895	1,023	0,015	rozdíl
0,845	0,216	0,862	1,070	0,000	rozdíl
0,896	0,301	0,828	1,111	0,000	rozdíl
0,932	0,410	0,938	1,034	0,052	aditivita
0,951	0,496	1,069	0,996	0,312	aditivita
0,968	0,602	1,068	0,993	0,186	aditivita
0,978	0,695	1,161	0,980	0,013	rozdíl
0,988	0,799	1,100	1,010	0,235	aditivita
0,994	0,897	1,096	0,979	0,130	aditivita
1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

U směsi ethanol – anilin se v akutní toxicitě $EC50'$ projevuje smíšená odchylka od aditivity (graf 5.1.6.2.). K_{mix} se ale od aditivity odchyluje pouze ve 2 bodech, $R'_{ethanol} = 0,216$ a $0,301$ (graf 5.1.6.4.). Tato odchylka je zřejmě způsobena vlivem anilinu. $EC50'$ a K_{mix} jsou statisticky významně podobné ve většině bodů, v obou rozdílných bodech je odchylka $EC50'$ a K_{mix} opačná. K_{mix} zde vykazuje hodnoty vyšší než 1. Statisticky významná souvislost je dána spíše vyššími rozptyly $EC50'$, v průběhu obou R-grafů není jasná podobnost.

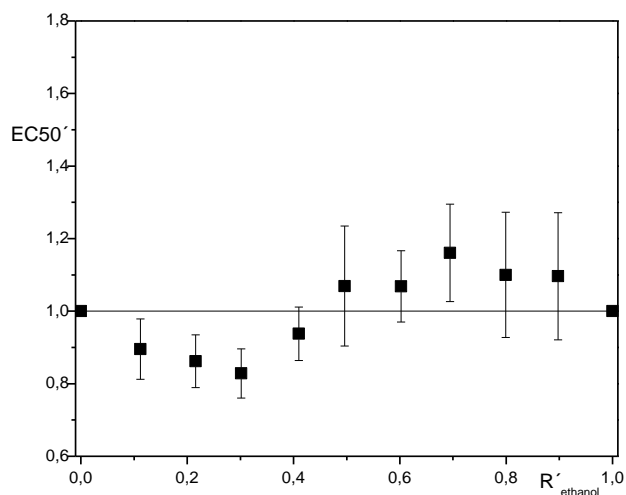
Parametr c_g'/c_1' ethanolu i anilinu se od aditivity liší pro $R'_{ethanol}$ menší 0,41. Odchylka ethanolu je záporná, odchylka anilinu kladná – v plynné fázi má vyšší relativní podíl anilin. V grafu 5.1.6.6. jsou patrné odchylky obou složek směsi. U směsi s vyšším podílem ethanolu se od sebe hodnoty c_g'/c_1' obou složek téměř neliší.

Hodnoty $\Sigma c_g'$ se od aditivity liší u všech $R'_{ethanol}$, chyba měření je zde však velice nízká. Naskytá se otázka, zda by se při větším počtu měření nezvýšil rozptyl a neaditivita by zůstala statisticky významná (graf 5.1.6.10.).

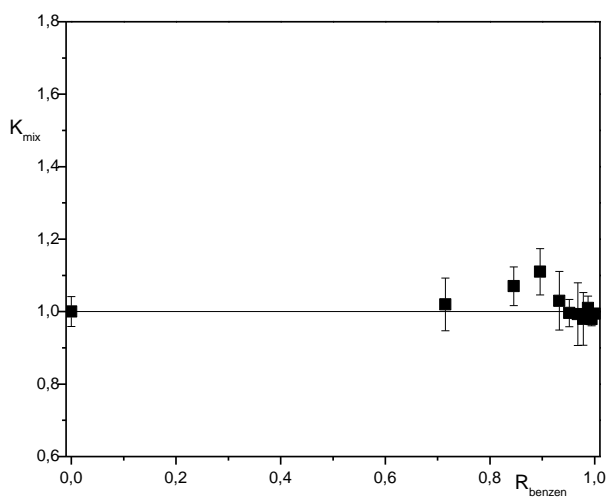
Graf 5.1.6.1. Směs ethanol - anilin: závislost EC50' na R_{ethanol}



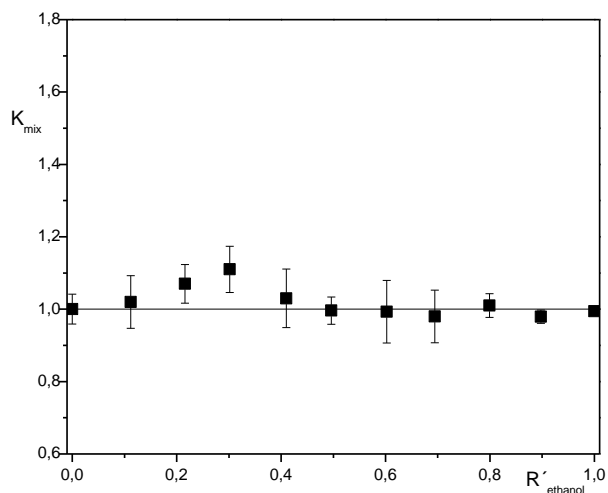
Graf 5.1.6.2. Směs ethanol - anilin: závislost EC50' na R'_{ethanol}



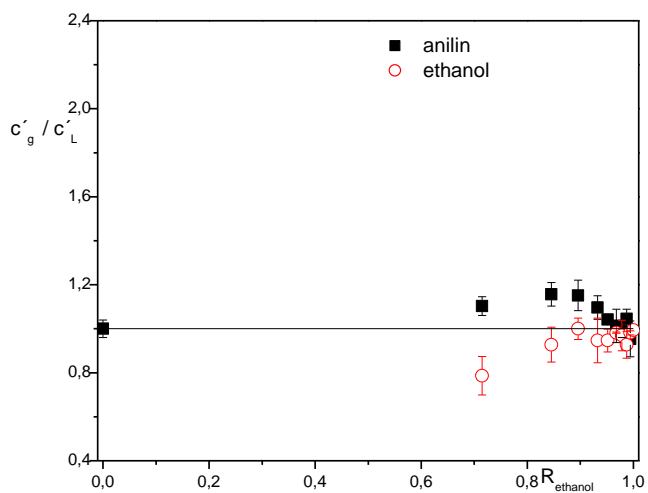
Graf 5.1.6.3. Směs ethanol - anilin: závislost K_{mix} na R_{ethanol}



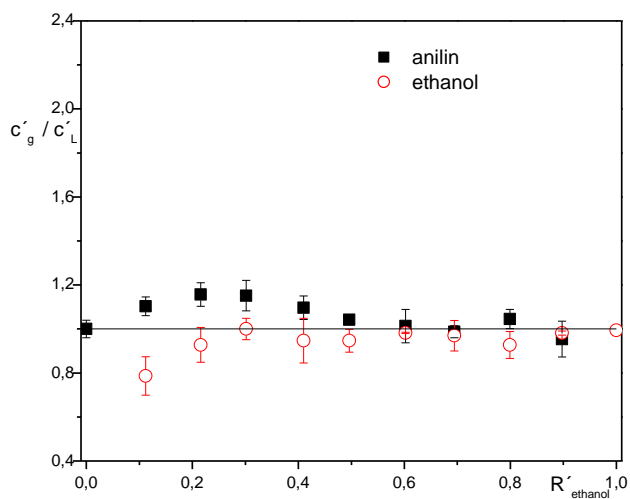
Graf 5.1.6.4. Směs ethanol - anilin: závislost K_{mix} na $R'_{ethanol}$



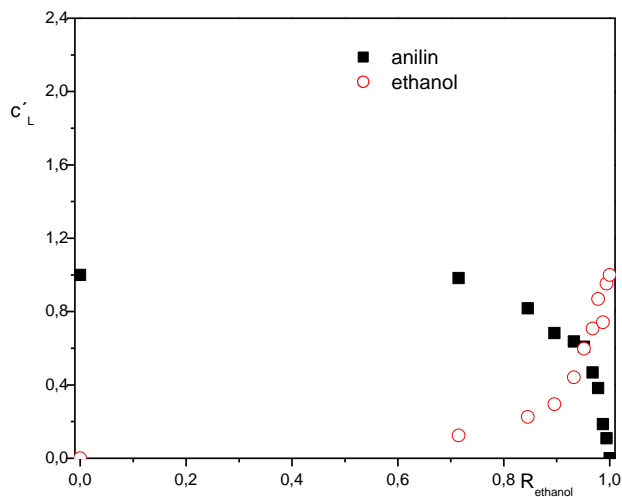
Graf 5.1.6.5. Směs ethanol - anilin: závislost c'_g/c'_l na $R_{ethanol}$



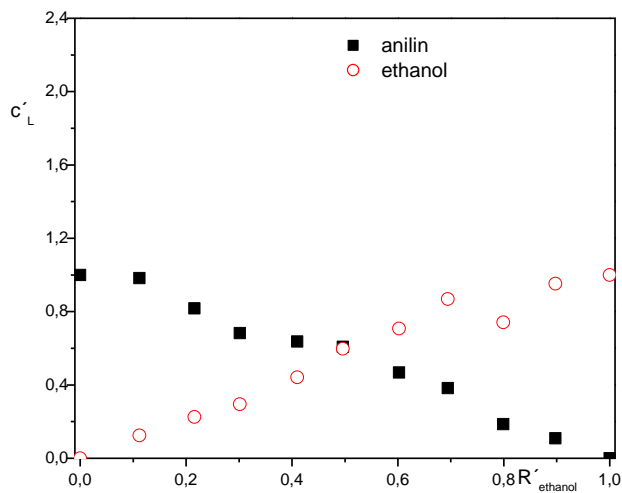
Graf 5.1.6.6. Směs ethanol - anilin: závislost c'_g/c'_l na $R'_{ethanol}$



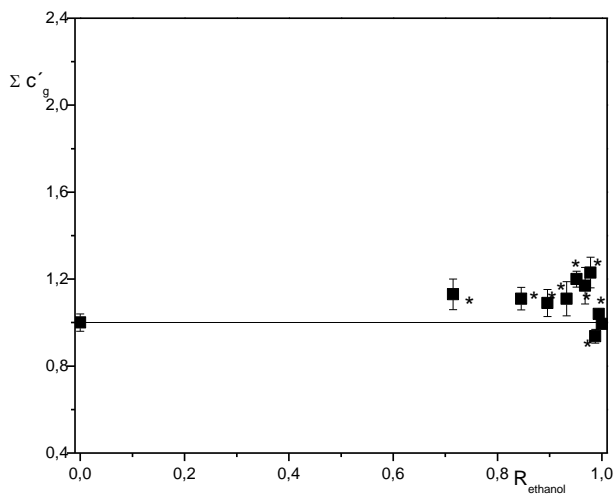
Graf 5.1.6.7. Směs ethanol - anilin: závislost c'_1 na R_{ethanol}



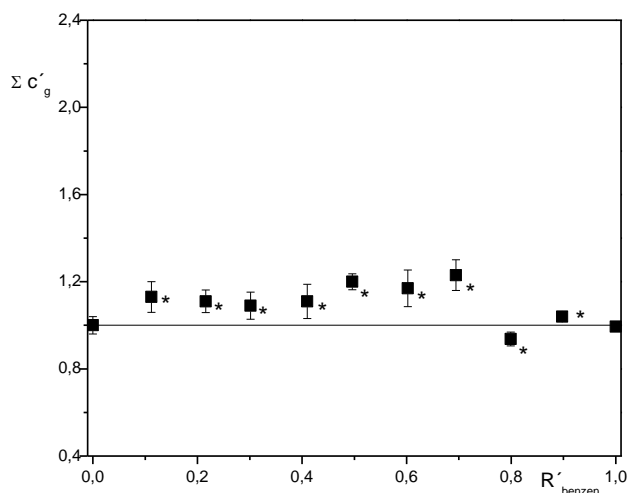
Graf 5.1.6.8. Směs ethanol - anilin: závislost c'_1 na R'_{ethanol}



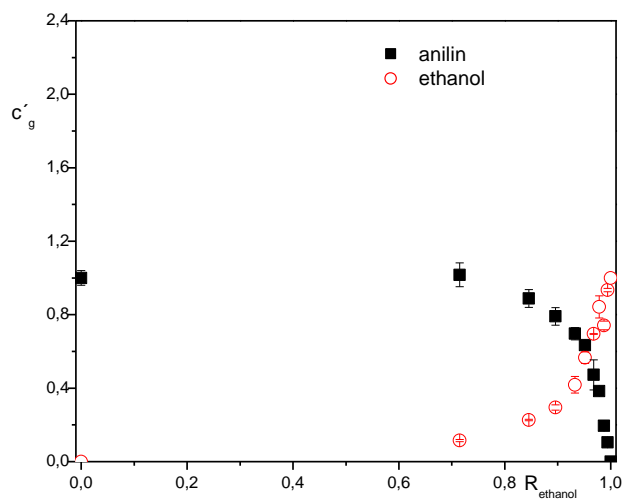
Graf 5.1.6.9. Směs ethanol - anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{ethanol}



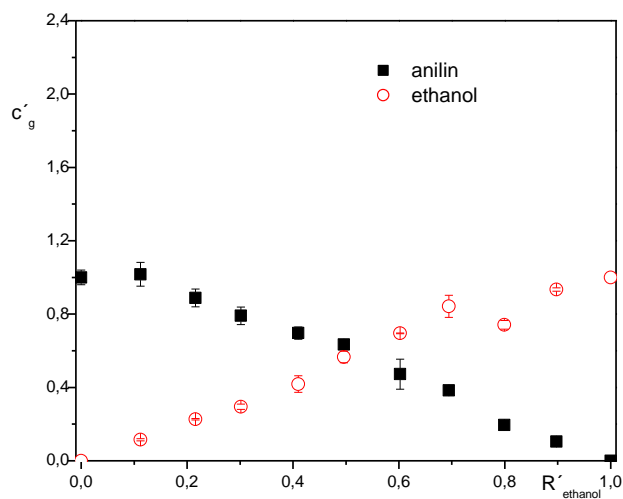
Graf 5.1.6.10. Směs ethanol - anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na R'_{ethanol}



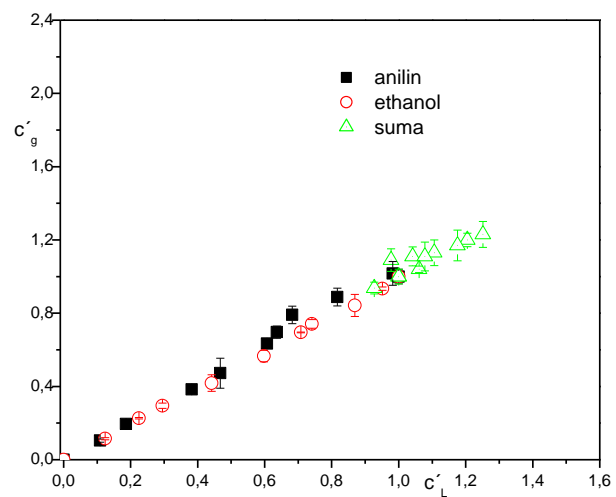
Graf 5.1.6.11. Směs ethanol - anilin: závislost c'_g na R_{ethanol}



Graf 5.1.6.12. Směs ethanol - anilin: závislost c'_g na R'_{ethanol}



Graf 5.1.6.13. Směs ethanol - anilin: závislost c'_g na c'_L



5.2. VÝSLEDKY MĚŘENÍ – TESTOVÁNÍ ADITIVITY $\Sigma c_g'$ ZA KONSTANTNÍ KONCENTRACE ROZTOKŮ

V kapitole jsou uvedeny zpracované výsledky měření navazujícího na porovnání K_{mix} a $EC50'$. Byly zkoumány roztoky stejných binárních směsí látek jako v předchozí části. Suma koncentrací v kapalně fázi však nesledovala koncentrace $EC50$, ale byla vždy konstantní a měnil se pouze poměr obou látek. Pro každou sledovanou směs bylo změřeno nejméně pět koncentračních úrovní. Rozsah koncentrací roztoků byl omezen rozpustností látek. Proto jsou pro různé směsi použity různé celkové koncentrace.

Parametr K_{mix} v této části práce není použit, jeho velikost pro jednotlivá měření je totožná s velikostí parametru $\Sigma c_g'$. Ze stejného důvodu není k popisu složení roztoku použit normalizovaný molární zlomek R' , je totožný s molárním zlomkem R . To je dáno konstantní sumou koncentrací v kapalně fázi.

Přesnost a reprodukovatelnost měření je vyjádřena intervalem spolehlivosti na hladině statistické významnosti $\alpha = 0,05$. V grafech je vyjádřena svislou úsečkou, procházející bodem, vyjadřující průměr z 6 měření. Úsečka není zdánlivě uvedena, pokud nepřesahuje rozměr bodu.

V R-grafu horizontální přerušovaná čára při hodnotě závisle proměnné ($\Sigma c_g'$) rovné 1,0 odpovídá aditivitě. Shoda sumy normalizovaných koeficientů distribuce směsi ($\Sigma c_g'$) s aditivitou distribučního pochodu mezi plynnou a kapalnou fází byla testována pro každý bod pomocí t-testu s Bonferroniho korekcí na vícenásobné výběry. Hodnota α byla pro všechna porovnávání rovna 0,0083.

Významnost odchylek je v grafech $\Sigma c_g'$ vyznačena nad průměry na hladině statistické významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky jsou řazeny podle jednotlivých testovaných směsí. Pro každou směs jsou uvedeny nejprve tabulky s výsledky, poté jednotlivé grafy.

V tabulkách jsou uvedeny následující hodnoty, vždy pro jednotlivé Σc_1 :

R	R'	c _g ' látky A	c _g ' látky B	Σc _g '	P(Σc _g ' = 1)
---	----	--------------------------	--------------------------	-------------------	--------------------------

Grafy jsou pro každou směs řazeny v následujícím pořadí:

- závislost $\Sigma c_g'$ na Σc_1 pro všechna R
- závislost $\Sigma c_g'$ na R pro všechny Σc_1
- závislost c_g' na R pro jednotlivé Σc_1
- závislost c_g' na Σc_1 pro jednotlivá R.

5.2.1. Benzen – ethanol

Tab. 5.2.1.1. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,022$ mol/l

R_{benzen}	c_g' ethanol	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,791	0,178	0,969	0,172	aditivita
0,400	0,631	0,368	0,998	0,972	aditivita
0,600	0,429	0,678	1,107	0,315	aditivita
0,800	0,223	0,986	1,208	0,005	rozdíl
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.1.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,018$ mol/l

R_{benzen}	c_g' ethanol	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,790	0,173	0,963	0,664	aditivita
0,400	0,535	0,335	0,870	0,032	aditivita
0,600	0,410	0,523	0,933	0,321	aditivita
0,800	0,203	0,788	0,990	0,871	aditivita
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.1.3. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,013$ mol/l

R_{benzen}	c_g' ethanol	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,718	0,173	0,891	0,006	rozdíl
0,400	0,568	0,388	0,957	0,298	aditivita
0,600	0,307	0,574	0,881	0,001	rozdíl
0,800	0,199	0,756	0,956	0,274	aditivita
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.1.4. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,009$ mol/l

R_{benzen}	c_g' ethanol	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,625	0,193	0,818	0,000	rozdíl
0,400	0,399	0,388	0,787	0,000	rozdíl
0,600	0,399	0,618	1,017	0,746	aditivita
0,800	0,242	0,851	1,094	0,001	rozdíl
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.1.5. Hodnoty $\Sigma c'_g$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity pro $\Sigma c_1 = 0,005 \text{ mol/l}$

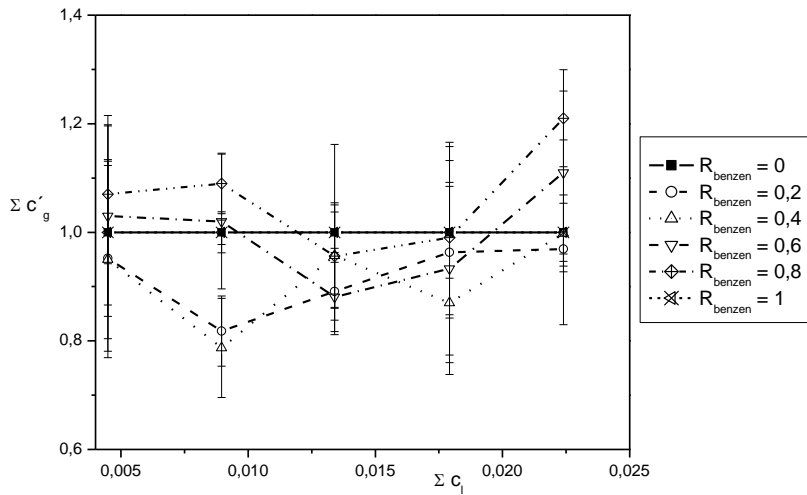
R_{benzen}	$c'_g \text{ ethanol}$	$c'_g \text{ benzen}$	$\Sigma c'_g$	$P(\Sigma c'_g = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,761	0,191	0,952	0,502	aditivita
0,400	0,566	0,384	0,950	0,511	aditivita
0,600	0,416	0,609	1,025	0,742	aditivita
0,800	0,220	0,853	1,073	0,186	aditivita
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Směs benzen – ethanol vykazuje odchylky od aditivity na třech koncentračních úrovních, pro všechna R_{benzen} (0,2 – 0,8). U nejvyšší použité koncentrace je viditelná vysoká kladná odchylka benzenu. V grafu 5.2.1.7. je možno pozorovat stoupající tendenci bodů $\Sigma c'_g$ se stoupajícím R_{benzen} , mimo $R_{\text{benzen}} = 0,8$ však odchylky nejsou statisticky významné.

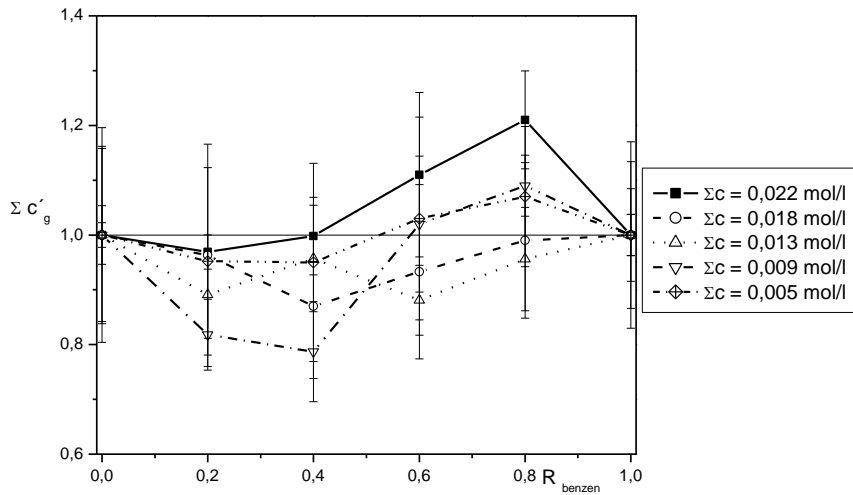
Stejnou tendenci je možno vidět u $\Sigma c_1 = 0,009$ (graf 5.2.1.4.), zde však odchylky jsou různé. Pro $R_{\text{benzen}} = 0,2$ a $0,4$ je odchylka záporná (inhibice), pro $R_{\text{benzen}} 0,8$ kladná. Zde se projevuje potenciace, koncentrace v plynné fázi je vyšší než součet odpovídajících podílů obou složek.

U $\Sigma c_1 = 0,013$ jeví parametr $\Sigma c'_g$ zápornou odchylku u $R_{\text{benzen}} = 0,2$ a $0,6$. V grafu 5.2.1.9. lze pozorovat vzestupnou tendenci $\Sigma c'_g$ od $\Sigma c_1 = 0,009$ do $0,022$. U ostatních závislostí $\Sigma c'_g$ na Σc_1 nemá závislost jasnou tendenci.

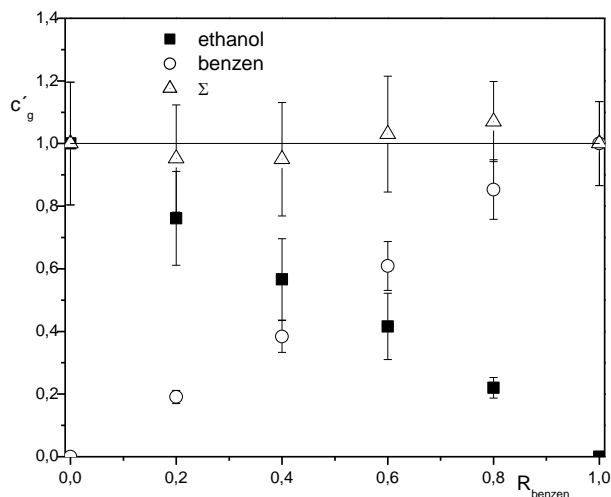
Graf 5.2.1.1. Směs benzen – ethanol: závislost $\Sigma c'_g$ na Σc_l pro různá R_{benzen}



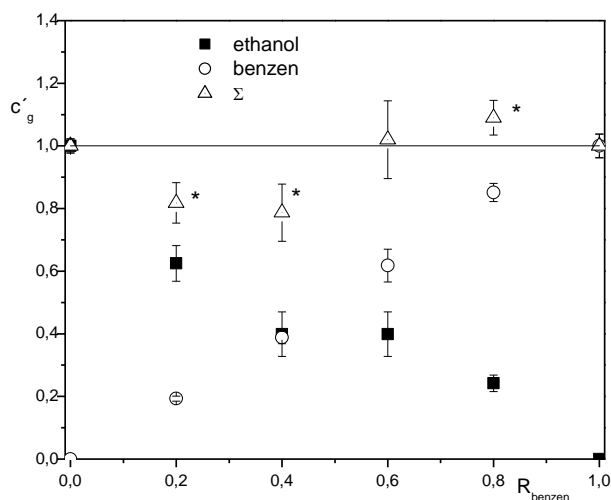
Graf 5.2.1.2. Směs benzen – ethanol: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{benzen} pro různá Σc_l



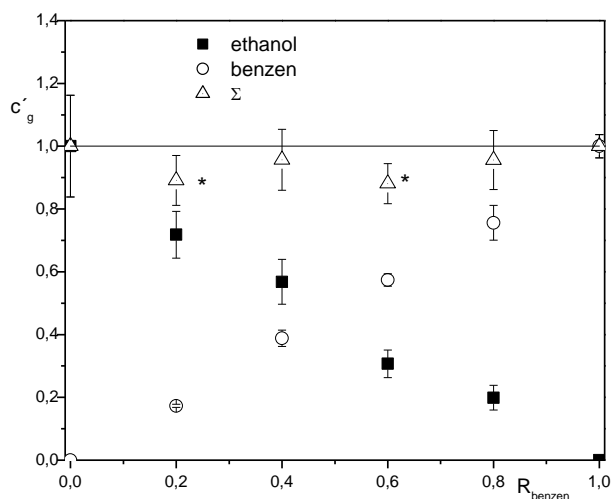
Graf 5.2.1.3. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_l = 0,005$ mol/l



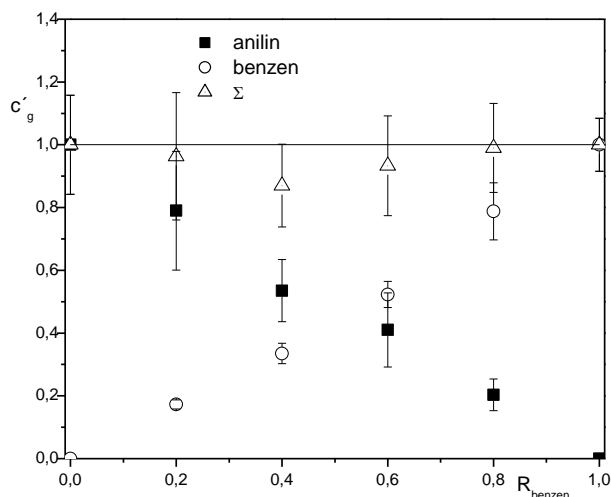
Graf 5.2.1.4. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_l = 0,009 \text{ mol/l}$



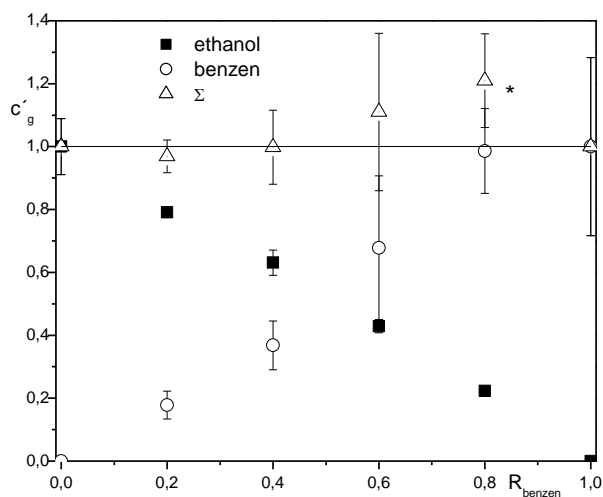
Graf 5.2.1.5. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_l = 0,013 \text{ mol/l}$



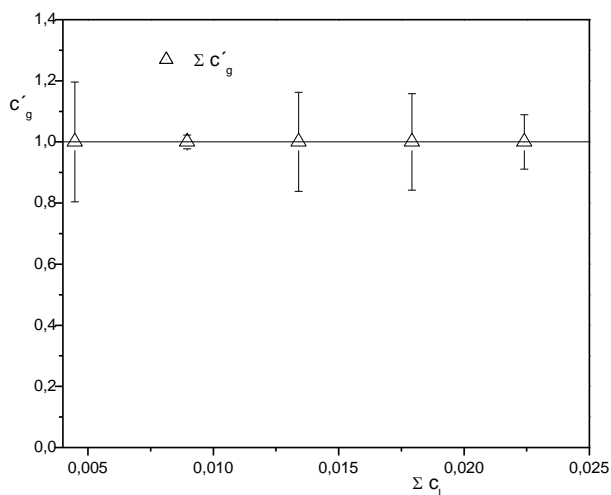
Graf 5.2.1.6. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_l = 0,018 \text{ mol/l}$



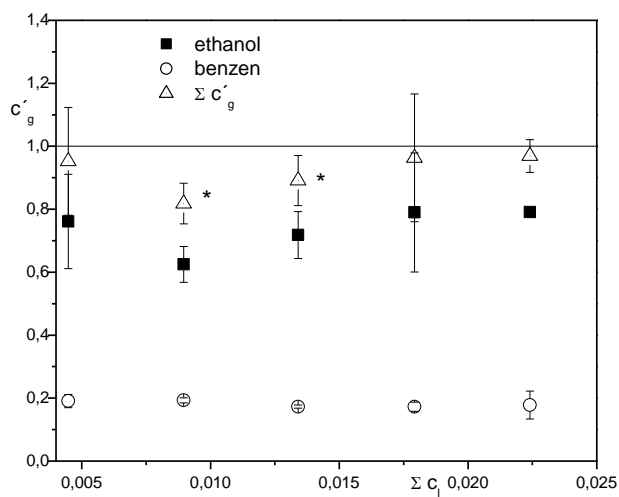
Graf 5.2.1.7. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,022 \text{ mol/l}$



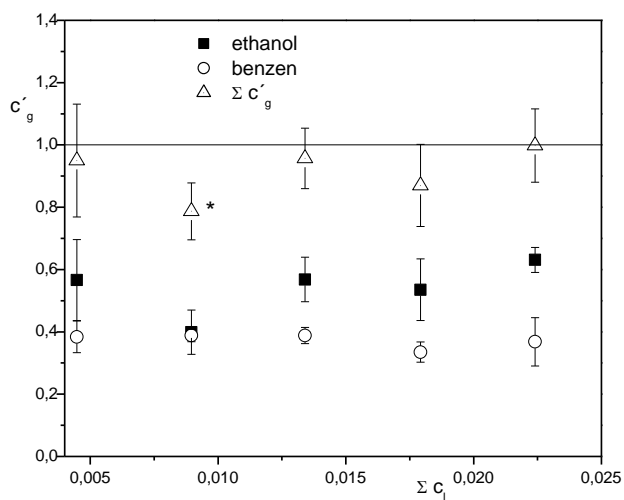
Graf 5.2.1.8. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{benzen}} = 0$



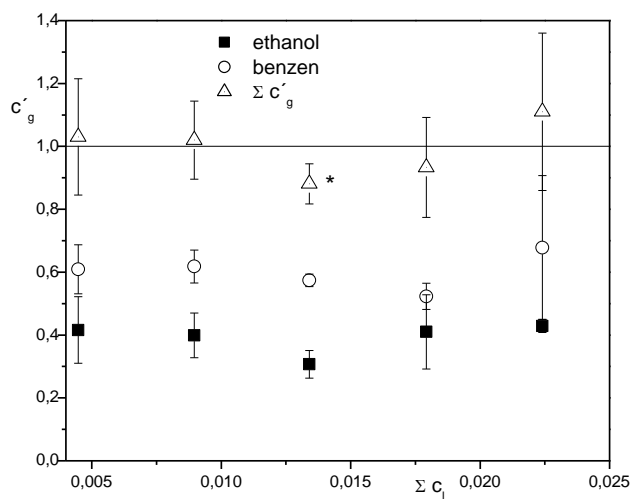
Graf 5.2.1.9. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{benzen}} = 0,2$



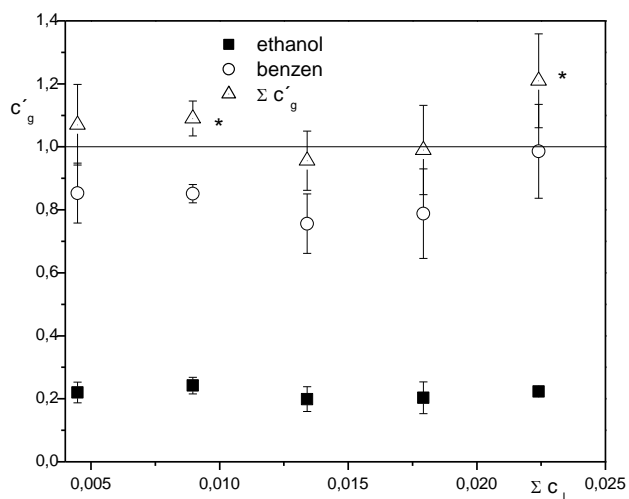
Graf 5.2.1.10. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0,4$



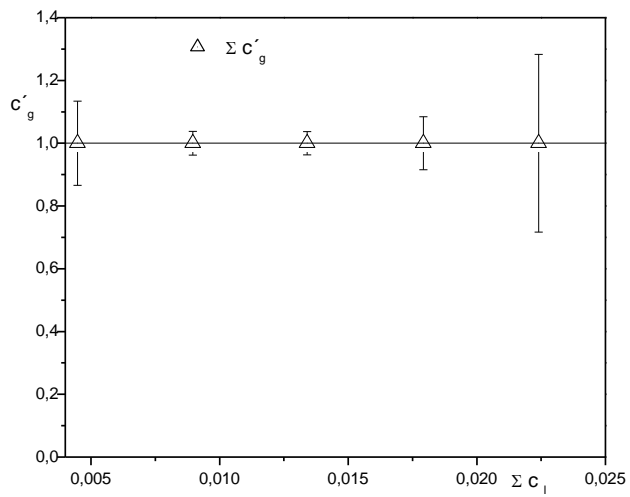
Graf 5.2.1.11. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0,6$



Graf 5.2.1.12. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0,8$



Graf 5.2.1.13. Směs benzen – ethanol: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{\text{benzen}} = 1$



5.2.2. Benzen – anilin

Tab. 5.2.2.1. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,022$ mol/l

R_{benzen}	c_g' anilin	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,822	0,121	0,943	0,069	aditivita
0,400	0,627	0,304	0,931	0,023	aditivita
0,600	0,455	0,415	0,870	0,000	rozdíl
0,800	0,247	0,804	1,051	0,169	aditivita
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.2.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,018$ mol/l

R_{benzen}	c_g' anilin	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,767	0,127	0,894	0,013	aditivita
0,400	0,605	0,271	0,877	0,000	rozdíl
0,600	0,404	0,358	0,762	0,000	rozdíl
0,800	0,223	0,730	0,953	0,113	aditivita
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab 5.2.2.3. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,013$ mol/l

R_{benzen}	c_g' anilin	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,815	0,157	0,972	0,126	aditivita
0,400	0,574	0,351	0,925	0,026	aditivita
0,600	0,429	0,495	0,924	0,003	rozdíl
0,800	0,205	0,761	0,967	0,202	aditivita
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.2.4. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,009$ mol/l

R_{benzen}	c_g' anilin	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,776	0,166	0,942	0,009	aditivita
0,400	0,552	0,388	0,940	0,005	rozdíl
0,600	0,406	0,542	0,948	0,099	aditivita
0,800	0,208	0,690	0,898	0,000	rozdíl
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.2.5. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity pro $\Sigma c_l = 0,005 \text{ mol/l}$

R_{benzen}	c_g' anilin	c_g' benzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,807	0,164	0,971	0,310	aditivita
0,400	0,594	0,559	1,153	0,000	rozdíl
0,600	0,408	0,602	1,010	0,544	aditivita
0,800	0,241	0,861	1,102	0,000	rozdíl
1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita

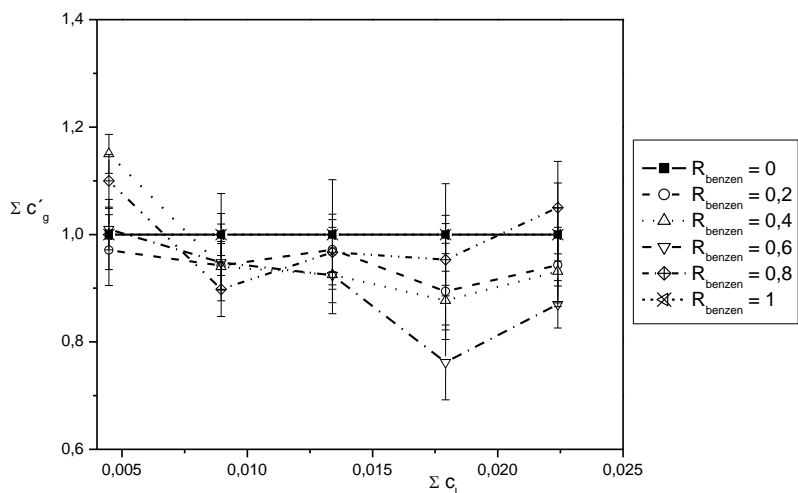
U směsi benzen – anilin se odchylky $\Sigma c_g'$ od aditivity vyskytují na všech koncentračních úrovních, ale jen u tří R_{benzen} .

Odchylky $\Sigma c_g'$ od aditivity jsou záporné u všech koncentrací kapalně fáze s výjimkou nejnižší, $\Sigma c_l = 0,005 \text{ mol/l}$ (graf 5.2.2.3.). U této jsou kladné, celková koncentrace látek v plynné fázi je vyšší než předpokládaná. V obou případech je to zřejmě způsobeno vlivem benzenu.

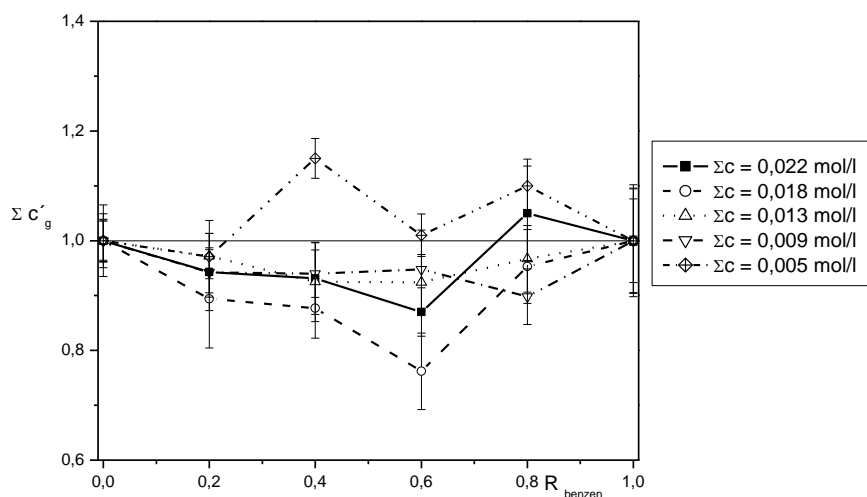
U koncentrace v kapalně fázi $0,022 \text{ mol/l}$ (graf 5.2.2.7.) lze pozorovat smíšený efekt v závislosti na R_{benzen} , odchylky však nejsou statisticky významné. Nejvyšší odchylky jsou u $\Sigma c_l = 0,018 \text{ mol/l}$, $\Sigma c_g'$ zde dosahuje až hodnoty 0,762 pro $R_{\text{benzen}} = 0,6$ (graf 5.2.2.6.).

V průběhu závislostí $\Sigma c_g'$ na R_{benzen} i na Σc_l nelze najít společného jmenovatele. U koncentrací v kapalně fázi větších $0,013 \text{ mol/l}$ se však objevuje záporná odchylka pro $R_{\text{benzen}} = 0,6$ (graf 5.2.2.11.).

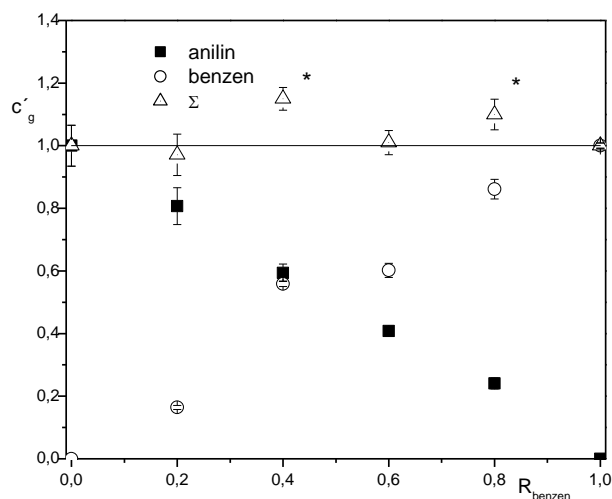
Graf 5.2.2.1. Směs benzen – anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na Σc_l pro různá R_{benzen}



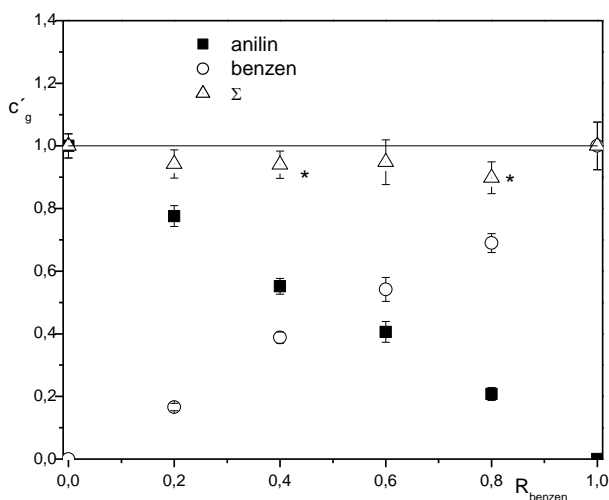
Graf 5.2.2.2. Směs benzen – anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{benzen} pro různá Σc_l



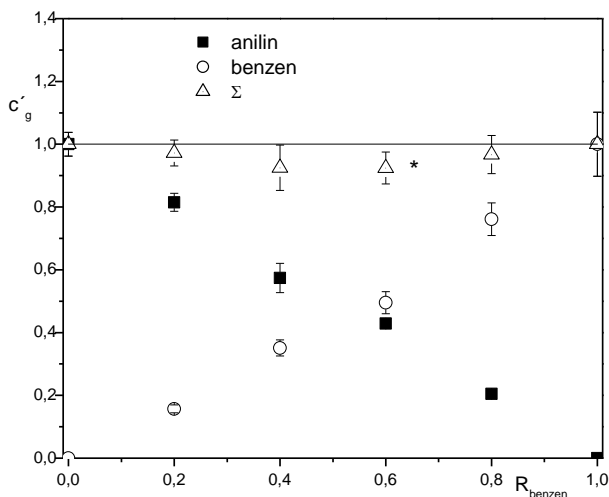
Graf 5.2.2.3. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_l = 0,005$ mol/l



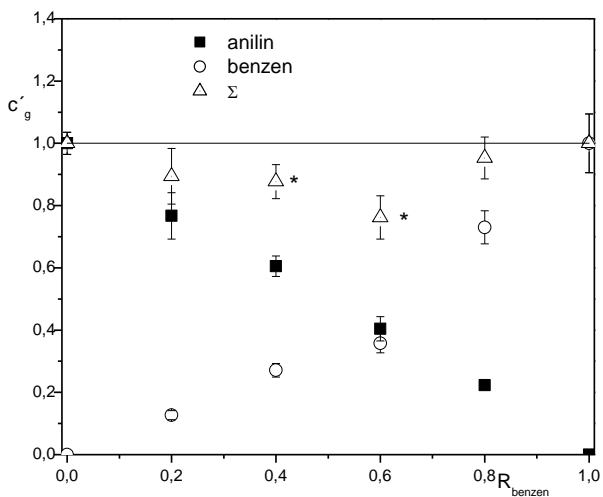
Graf 5.2.2.4. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,009 \text{ mol/l}$



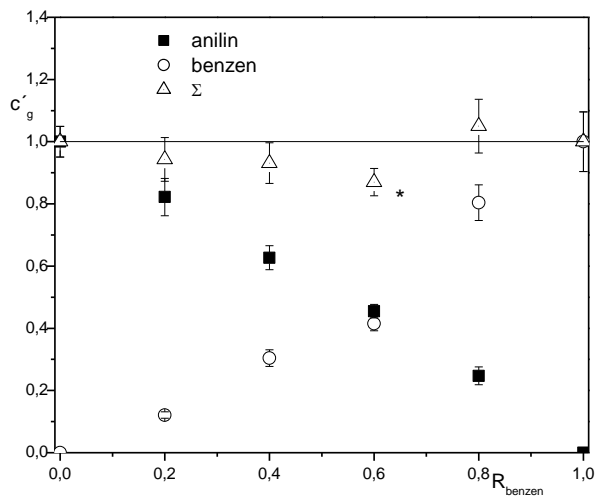
Graf 5.2.2.5. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,013 \text{ mol/l}$



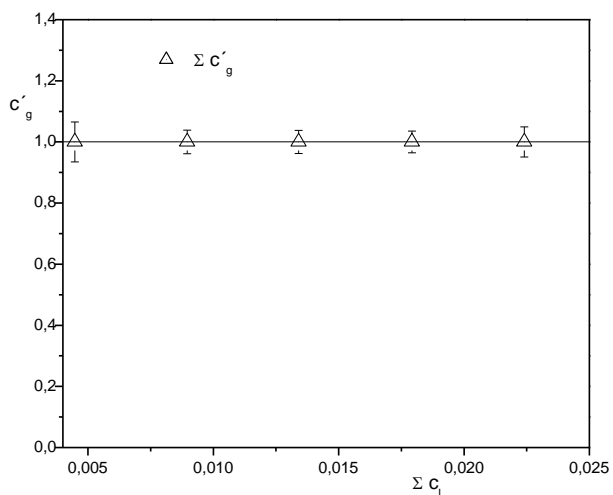
Graf 5.2.2.6. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,018 \text{ mol/l}$



Graf 5.2.2.7. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,022 \text{ mol/l}$



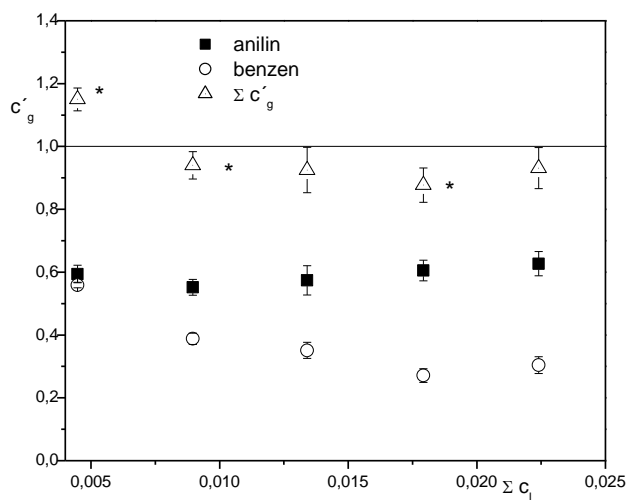
Graf 5.2.2.8. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{benzen}} = 0$



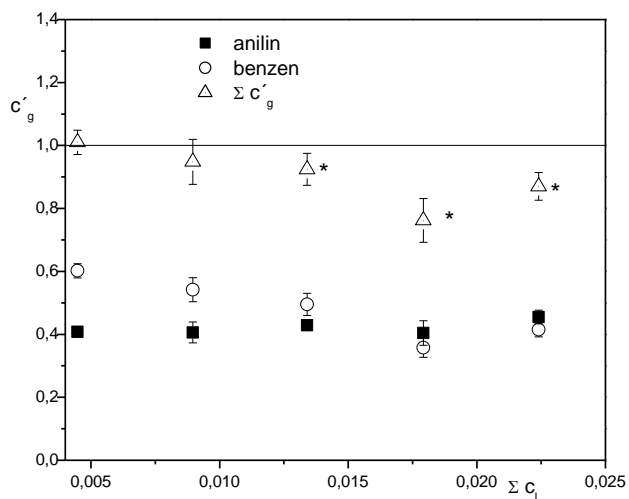
Graf 5.2.2.9. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{benzen}} = 0,2$



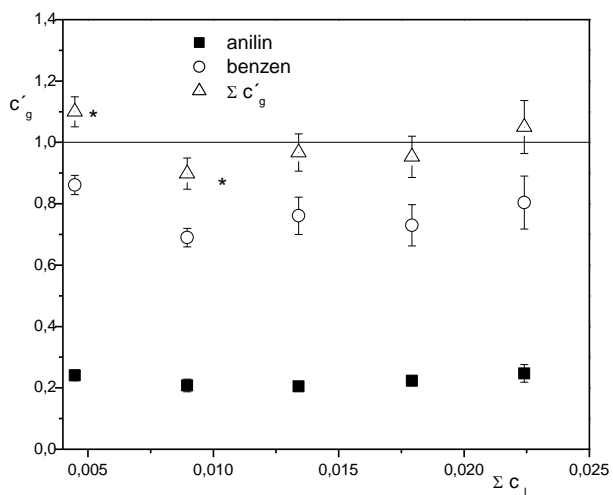
Graf 5.2.2.10. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0,4$



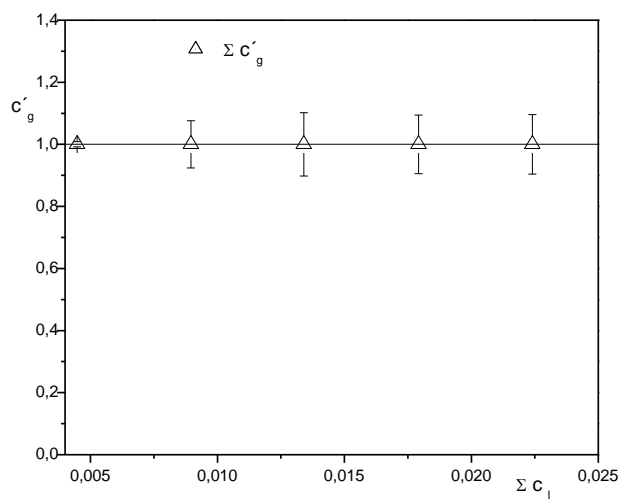
Graf 5.2.2.11. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0,6$



Graf 5.2.2.12. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0,8$



Graf 5.2.2.13. Směs benzen – anilin: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{benzen} = 1$



5.2.3. Benzen – nitrobenzen

Tab. 5.2.3.1 Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,013$ mol/l

R_{benzen}	c_g' benzen	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,209	0,774	0,983	0,760	aditivita
0,400	0,396	0,552	0,948	0,411	aditivita
0,600	0,677	0,368	1,046	0,304	aditivita
0,800	0,870	0,195	1,065	0,509	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.3.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,009$ mol/l

R_{benzen}	c_g' benzen	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,179	0,779	0,958	0,597	aditivita
0,400	0,371	0,594	0,965	0,618	aditivita
0,600	0,525	0,362	0,887	0,005	rozdíl
0,800	0,798	0,183	0,981	0,440	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.3.3. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,004$ mol/l

R_{benzen}	c_g' benzen	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,224	0,806	1,030	0,372	aditivita
0,400	0,424	0,633	1,057	0,143	aditivita
0,600	0,581	0,361	0,942	0,200	aditivita
0,800	0,885	0,184	1,069	0,443	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.3.4. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,002$ mol/l

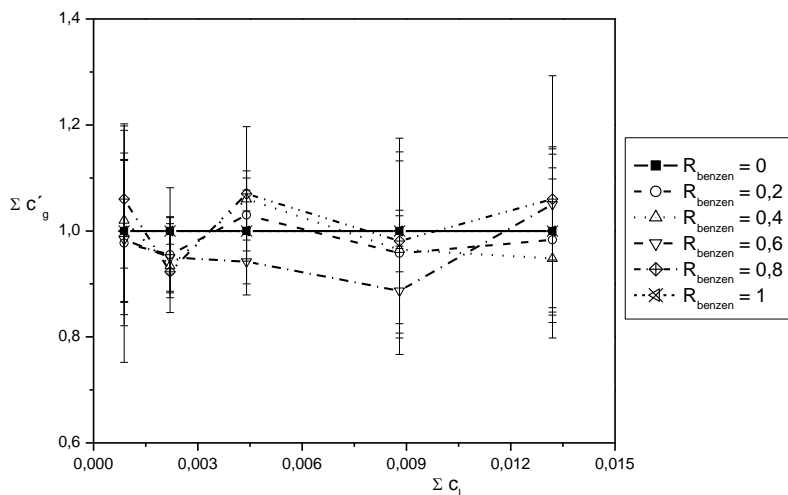
R_{benzen}	c_g' benzen	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,200	0,754	0,955	0,149	aditivita
0,400	0,393	0,541	0,934	0,019	aditivita
0,600	0,570	0,380	0,950	0,080	aditivita
0,800	0,728	0,195	0,923	0,030	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.3.5. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity pro $\Sigma c_l = 0,001 \text{ mol/l}$

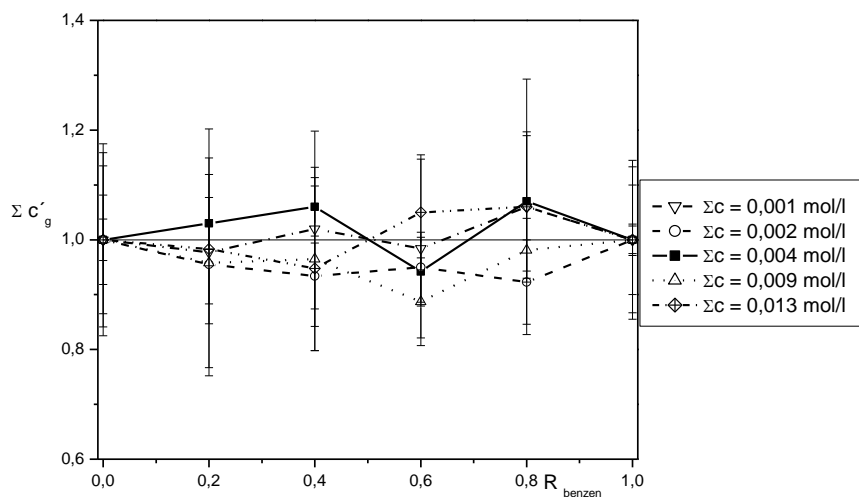
R_{benzen}	c_g' benzen	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,210	0,768	0,977	0,810	aditivita
0,400	0,443	0,575	1,017	0,816	aditivita
0,600	0,634	0,350	0,984	0,812	aditivita
0,800	0,884	0,173	1,057	0,305	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Směs benzen – nitrobenzen je aditivní ve všech koncentracích s výjimkou jediné, $R_{\text{benzen}} = 0,6$, $\Sigma c_l = 0,009 \text{ mol/l}$ (graf 5.2.3.4.). Zde se ukazuje záporná odchylka od aditivity, způsobená zřejmě chováním benzenu. Z dalších bodů závislostí nelze vysledovat tendenci, odchylky od aditivity nejsou statisticky významné.

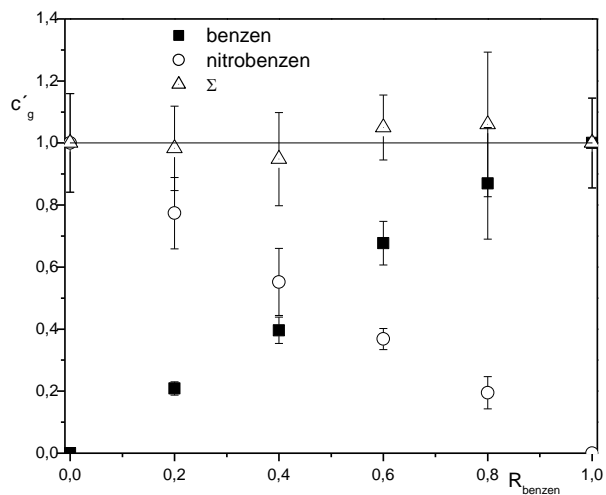
Graf 5.2.3.1. Směs benzen – nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na Σc_l pro různá R_{benzen}



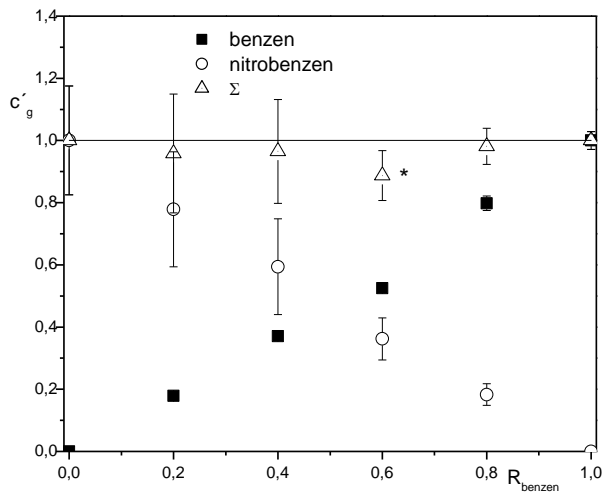
Graf 5.2.3.2. Směs benzen – nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{benzen} pro různá Σc_l



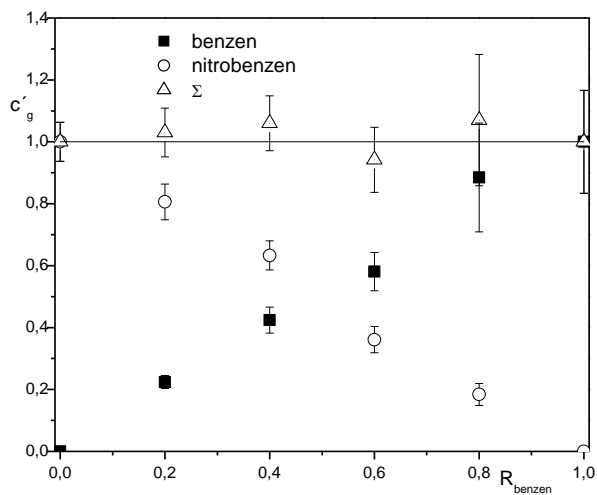
Graf 5.2.3.3. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_l = 0,013 \text{ mol/l}$



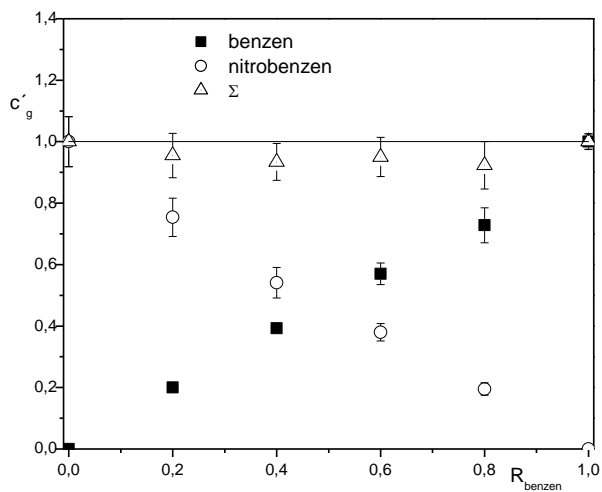
Graf 5.2.3.4. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,009$ mol/l



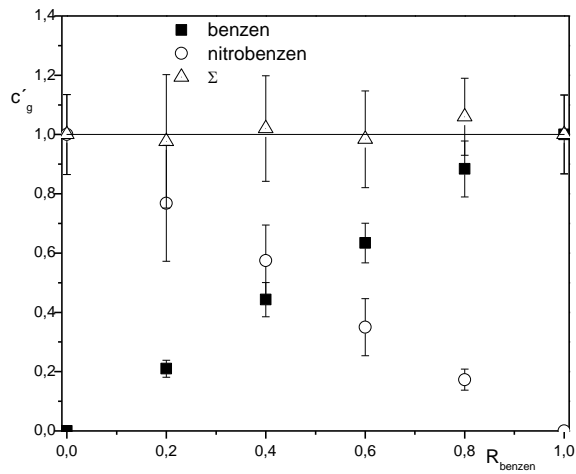
Graf 5.2.3.5. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,004$ mol/l



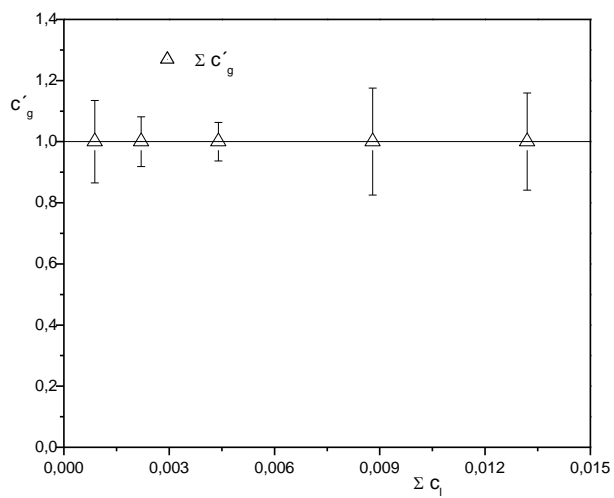
Graf 5.2.3.6. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_1 = 0,002$ mol/l



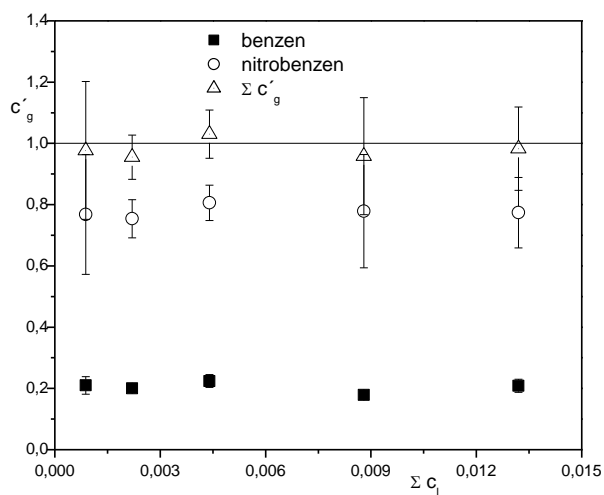
Graf 5.2.3.7. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na R_{benzen} pro $\Sigma c_i = 0,001$ mol/l



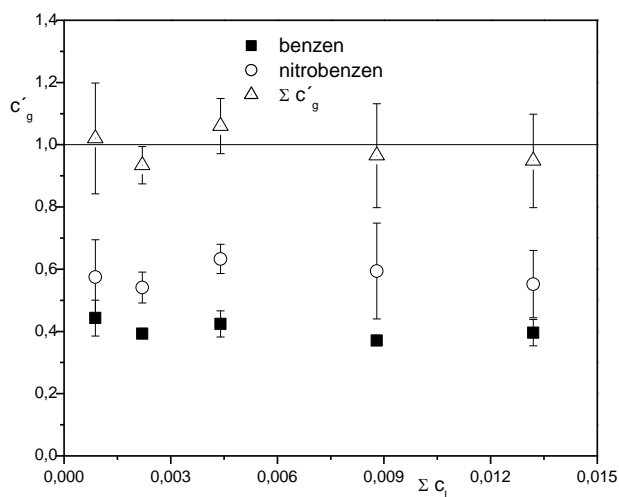
Graf 5.2.3.8. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0$



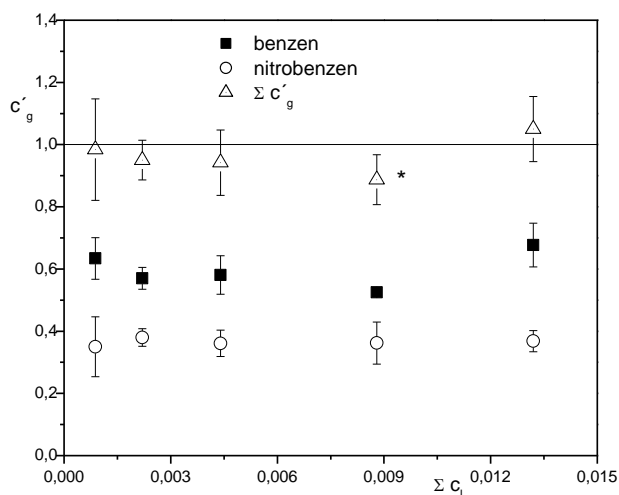
Graf 5.2.3.9. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{\text{benzen}} = 0,2$



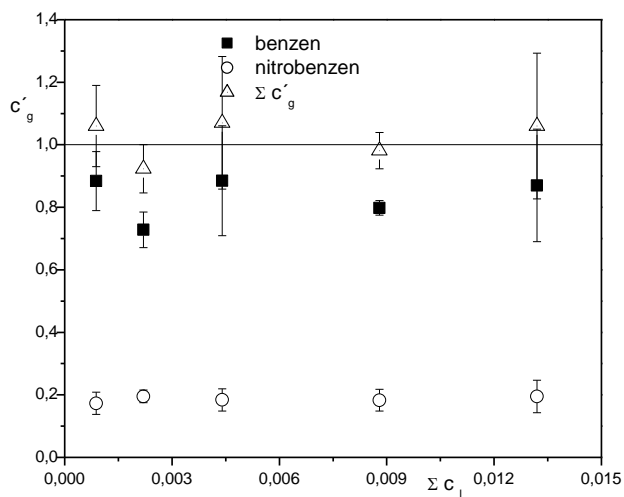
Graf 5.2.3.10. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{\text{benzen}} = 0,4$



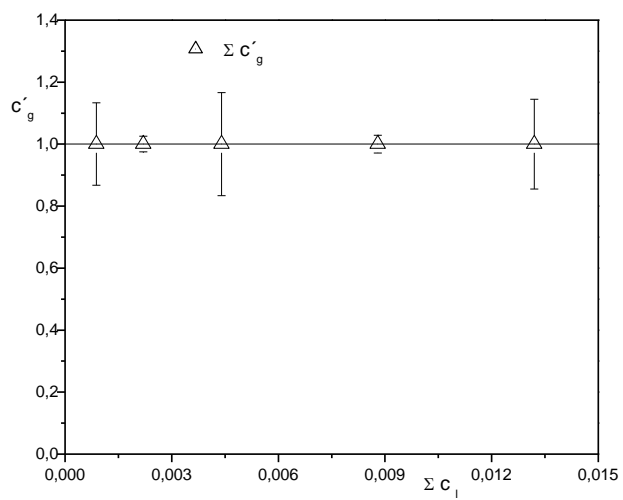
Graf 5.2.3.11. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{\text{benzen}} = 0,6$



Graf 5.2.3.12. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{\text{benzen}} = 0,8$



Graf 5.2.3.13. Směs benzen – nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{\text{benzen}} = 1$



5.2.4. Ethanol – anilin

Tab. 5.2.4.1. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,064$ mol/l

R_{ethanol}	c_g' ethanol	c_g' anilin	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,201	0,825	1,026	0,495	aditivita
0,400	0,387	0,631	1,018	0,729	aditivita
0,600	0,603	0,412	1,015	0,814	aditivita
0,800	0,824	0,207	1,031	0,745	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.4.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,051$ mol/l

R_{ethanol}	c_g' ethanol	c_g' anilin	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,208	0,777	0,985	0,790	aditivita
0,400	0,343	0,602	0,945	0,167	aditivita
0,600	0,528	0,428	0,956	0,296	aditivita
0,800	0,738	0,226	0,965	0,537	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.4.3. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,042$ mol/l

R_{ethanol}	c_g' ethanol	c_g' anilin	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,173	0,889	1,062	0,358	aditivita
0,400	0,231	0,649	0,880	0,040	aditivita
0,600	0,524	0,436	0,960	0,565	aditivita
0,800	0,786	0,222	1,008	0,931	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.4.4. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,034$ mol/l

R_{ethanol}	c_g' ethanol	c_g' anilin	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,177	0,800	0,976	0,605	aditivita
0,400	0,278	0,608	0,886	0,021	aditivita
0,600	0,570	0,417	0,987	0,677	aditivita
0,800	0,763	0,219	0,982	0,716	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.4.5. Hodnoty $\Sigma c'_g$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity pro $\Sigma c_l = 0,021 \text{ mol/l}$

R_{ethanol}	$c'_g \text{ ethanol}$	$c'_g \text{ anilin}$	$\Sigma c'_g$	$P(\Sigma c'_g = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,253	0,843	1,096	0,319	aditivita
0,400	0,390	0,664	1,054	0,285	aditivita
0,600	0,664	0,499	1,163	0,000	rozdíl
0,800	0,658	0,201	0,859	0,000	rozdíl
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

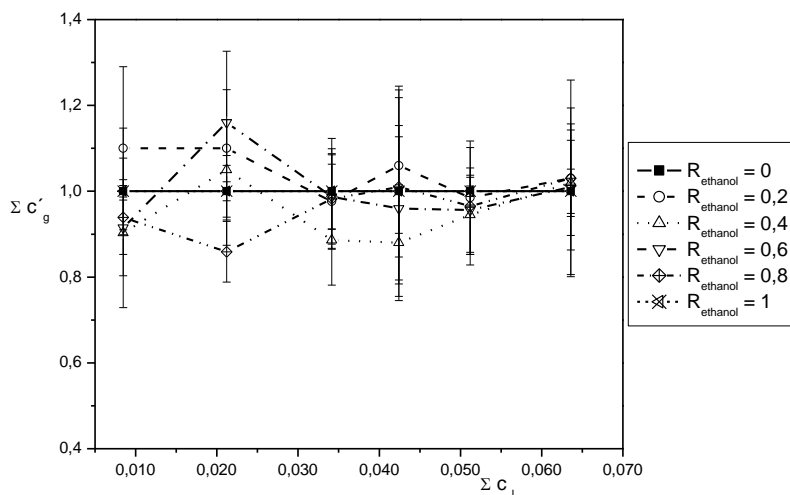
Tab. 5.2.4.6. Hodnoty $\Sigma c'_g$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity pro $\Sigma c_l = 0,008 \text{ mol/l}$

R_{ethanol}	$c'_g \text{ ethanol}$	$c'_g \text{ anilin}$	$\Sigma c'_g$	$P(\Sigma c'_g = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,266	0,837	1,103	0,209	aditivita
0,400	0,406	0,497	0,903	0,196	aditivita
0,600	0,634	0,281	0,915	0,087	aditivita
0,800	0,785	0,154	0,939	0,003	rozdíl
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

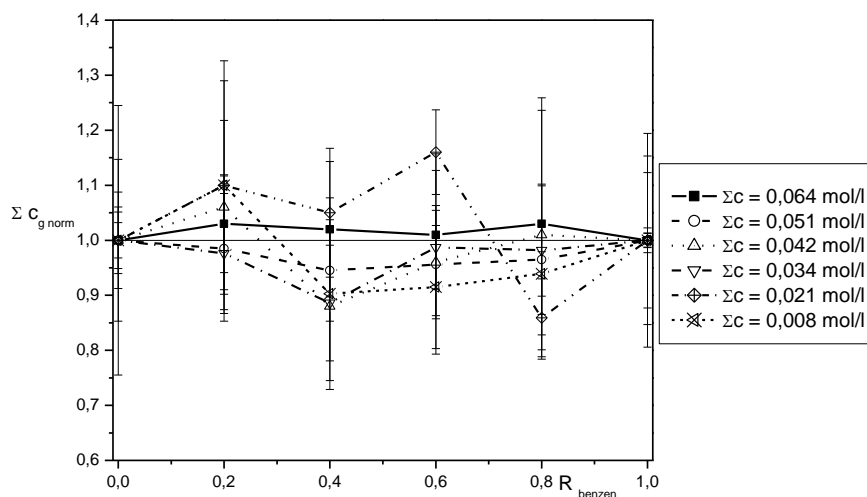
Směs ethanol – anilin projevuje odchylky $\Sigma c'_g$ od aditivity na dvou nejnižších koncentračních úrovních. U $\Sigma c_l = 0,008 \text{ mol/l}$ je odchylka záporná (graf 5.2.4.3.). U koncentrace $\Sigma c_l = 0,021 \text{ mol/l}$ jsou odchylky různé. Pro $R_{\text{ethanol}} = 0,6$ je kladná, pro 0,8 záporná, projevuje se zde smíšený efekt. Z grafů 5.2.4.13. a 5.2.4.14. je patrné, že k odchylce dochází vlivem obou složek směsi. Jedná se o vzájemné ovlivnění ethanolu a anilinu.

U dalších koncentrací kapalně fáze použitých v experimentu se statisticky významné odchylky $\Sigma c'_g$ od aditivity nevyskytují.

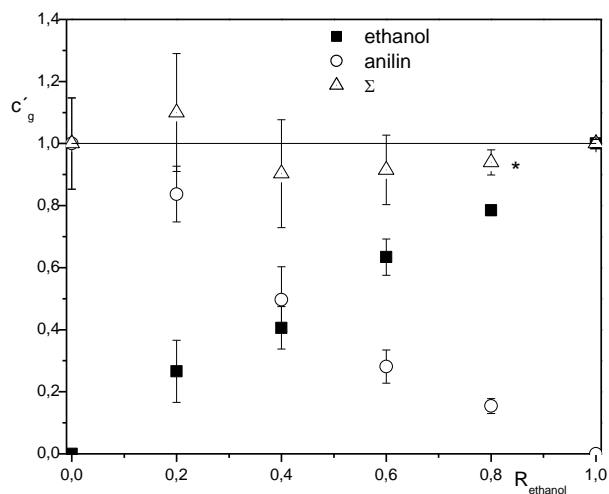
Graf 5.2.4.1. Směs ethanol – anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na Σc_l pro různá R_{ethanol}



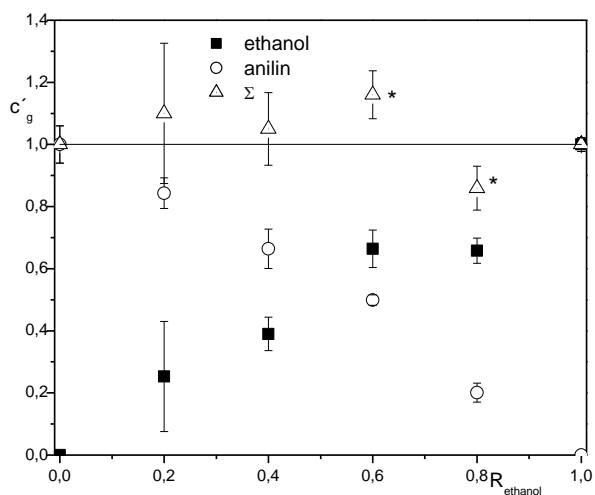
Graf 5.2.4.2. Směs ethanol – anilin: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{ethanol} pro různá Σc_l



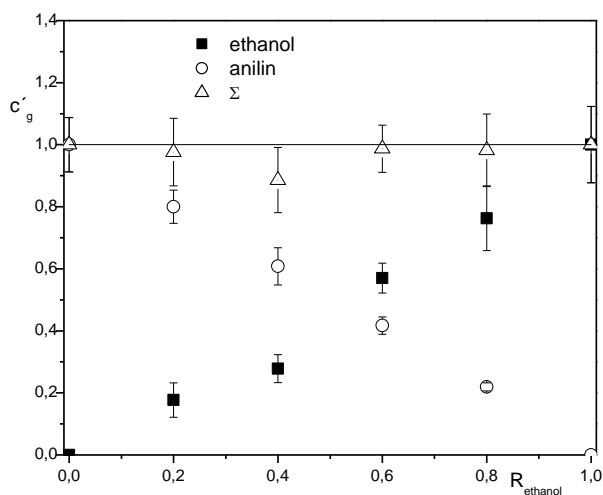
Graf 5.2.4.3. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na R_{ethanol} pro $\Sigma c_l = 0,008 \text{ mol/l}$



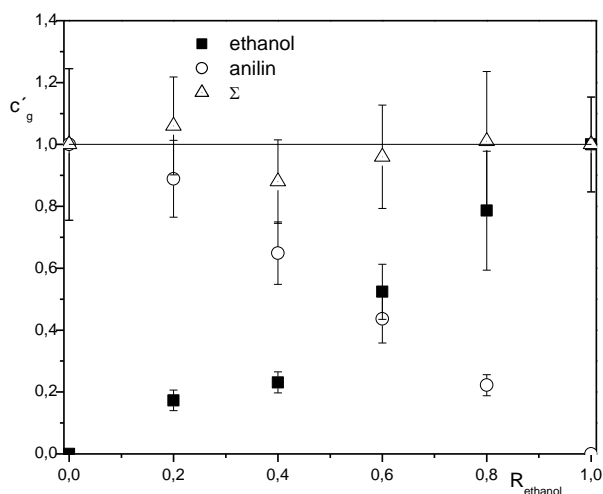
Graf 5.2.4.4. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na R_{ethanol} pro $\Sigma c_1 = 0,021 \text{ mol/l}$



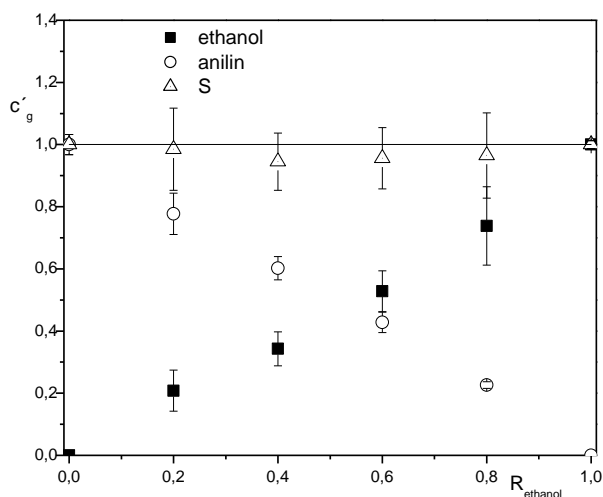
Graf 5.2.4.5. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na R_{ethanol} pro $\Sigma c_1 = 0,034 \text{ mol/l}$



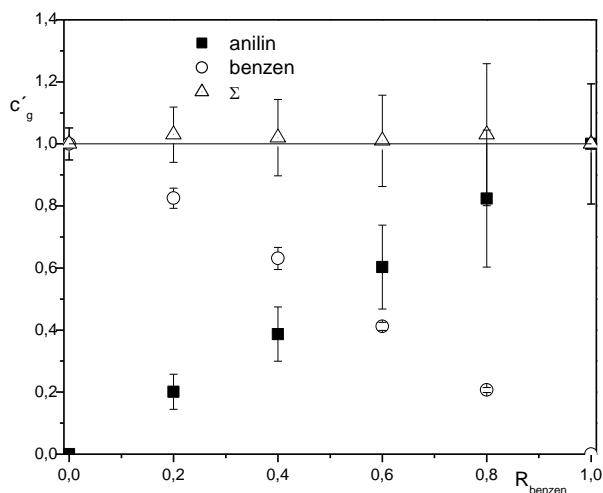
Graf 5.2.4.6. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na R_{ethanol} pro $\Sigma c_1 = 0,042 \text{ mol/l}$



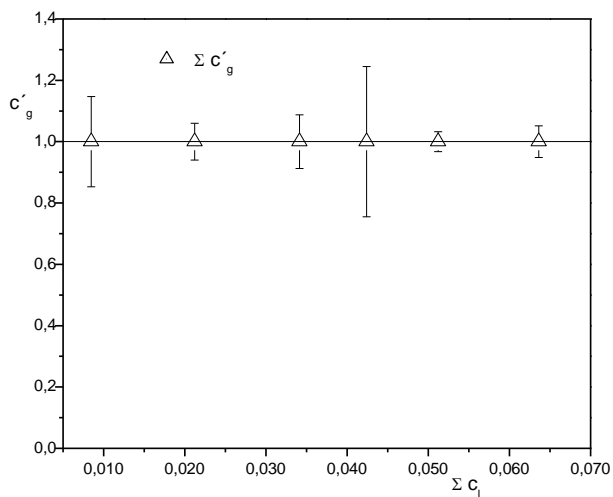
Graf 5.2.4.7. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na R_{ethanol} pro $\Sigma c_1 = 0,051 \text{ mol/l}$



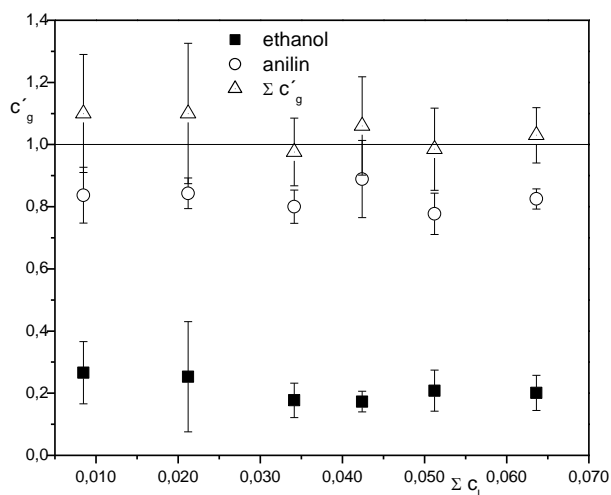
Graf 5.2.4.8. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na R_{ethanol} pro $\Sigma c_1 = 0,064 \text{ mol/l}$



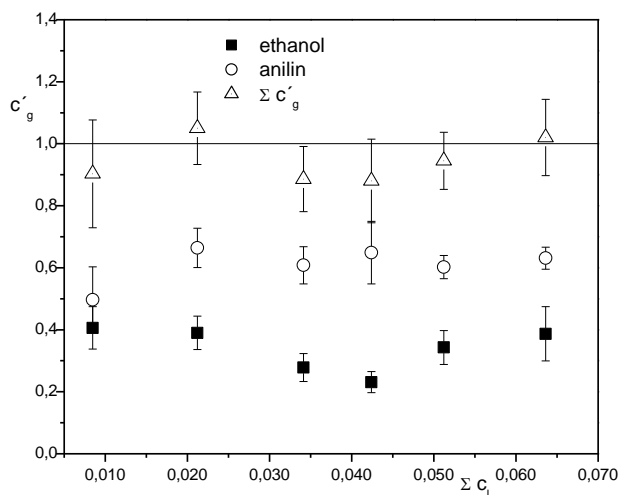
Graf 5.2.4.9. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{ethanol}} = 0$



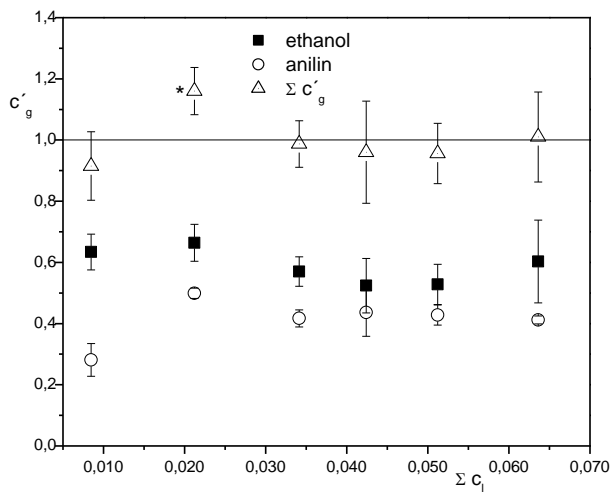
Graf 5.2.4.10. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{ethanol}} = 0,2$



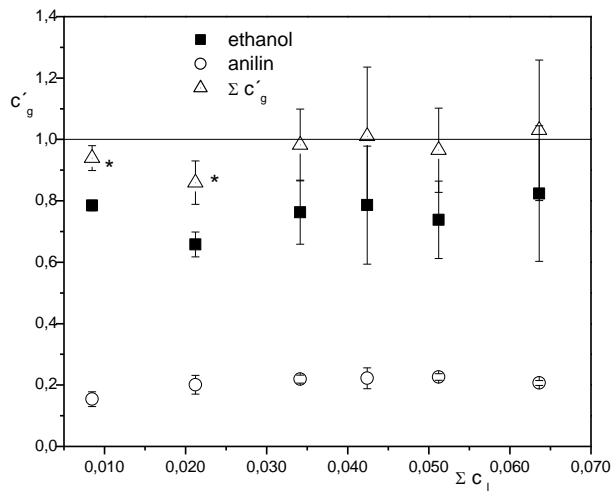
Graf 5.2.4.12. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{ethanol}} = 0,4$



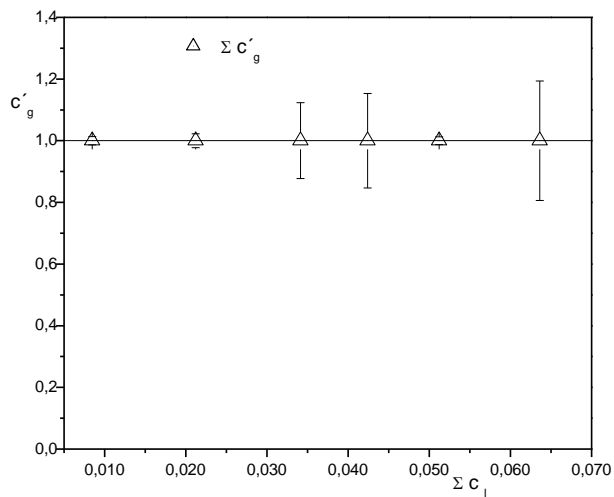
Graf 5.2.4.13. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{ethanol}} = 0,6$



Graf 5.2.4.14. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{\text{ethanol}} = 0,8$



Graf 5.2.4.15. Směs ethanol – anilin: závislost c'_g na Σc_l pro $R_{\text{ethanol}} = 1$



5.2.5. Anilin – nitrobenzen

Tab. 5.2.5.1. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,013$ mol/l

R_{anilin}	c_g' anilin	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,222	0,702	0,924	0,245	aditivita
0,400	0,426	0,504	0,930	0,317	aditivita
0,600	0,612	0,336	0,948	0,508	aditivita
0,800	0,826	0,160	0,986	0,867	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.5.2. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,009$ mol/l

R_{anilin}	c_g' anilin	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,220	0,804	1,025	0,720	aditivita
0,400	0,435	0,523	0,959	0,547	aditivita
0,600	0,639	0,355	0,994	0,938	aditivita
0,800	0,852	0,188	1,040	0,657	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.5.3. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,004$ mol/l

R_{anilin}	c_g' anilin	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,231	0,738	0,969	0,741	aditivita
0,400	0,412	0,535	0,948	0,333	aditivita
0,600	0,567	0,301	0,868	0,147	aditivita
0,800	0,806	0,182	0,988	0,821	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.5.4. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivita pro $\Sigma c_l = 0,002$ mol/l

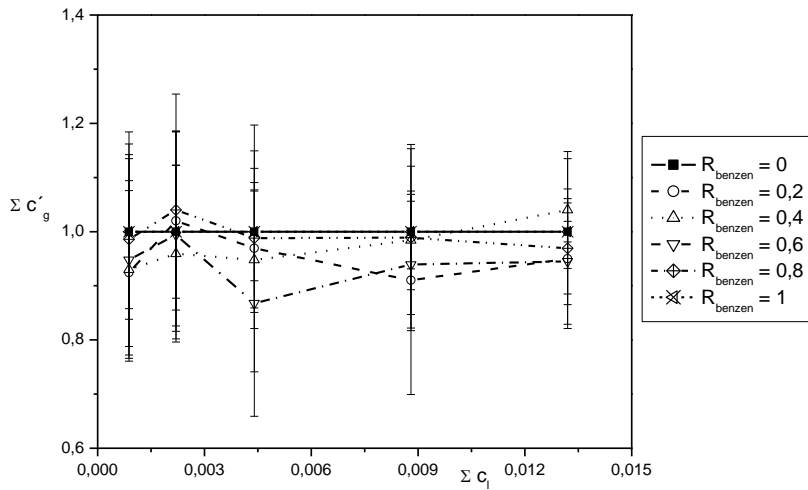
R_{anilin}	c_g' anilin	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,198	0,713	0,910	0,317	aditivita
0,400	0,378	0,606	0,984	0,671	aditivita
0,600	0,577	0,362	0,939	0,222	aditivita
0,800	0,797	0,192	0,989	0,882	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Tab. 5.2.5.5. Hodnoty $\Sigma c_g'$, normalizované koncentrace jednotlivých látek v plynné fázi, výsledky testu aditivity pro $\Sigma c_l = 0,001 \text{ mol/l}$

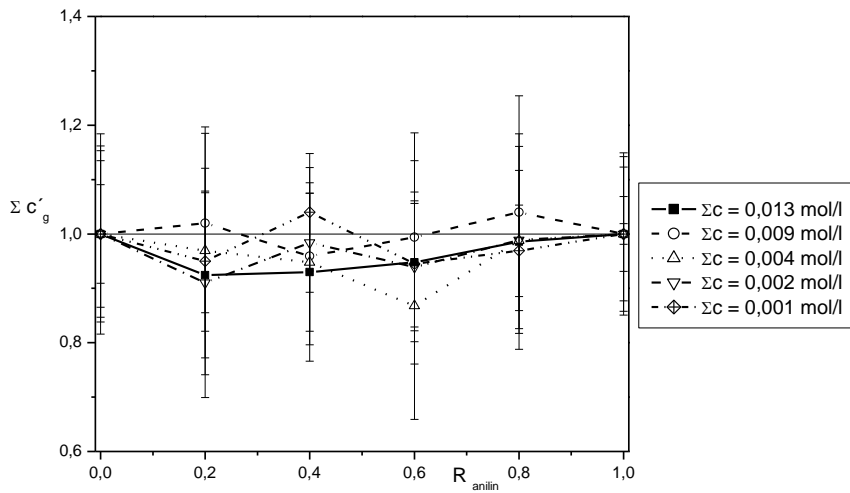
R_{anilin}	c_g' anilin	c_g' nitrobenzen	$\Sigma c_g'$	$P(\Sigma c_g' = 1)$	
0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	aditivita
0,200	0,176	0,774	0,950	0,359	aditivita
0,400	0,387	0,650	1,037	0,415	aditivita
0,600	0,555	0,390	0,945	0,271	aditivita
0,800	0,762	0,207	0,969	0,382	aditivita
1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	aditivita

Směs anilin – nitrobenzen je aditivní ve všech měřených koncentracích, nejsou zde patrné žádné statisticky významné odchylky od aditivity. Není zde patrné ani žádné ovlivnění složek směsi.

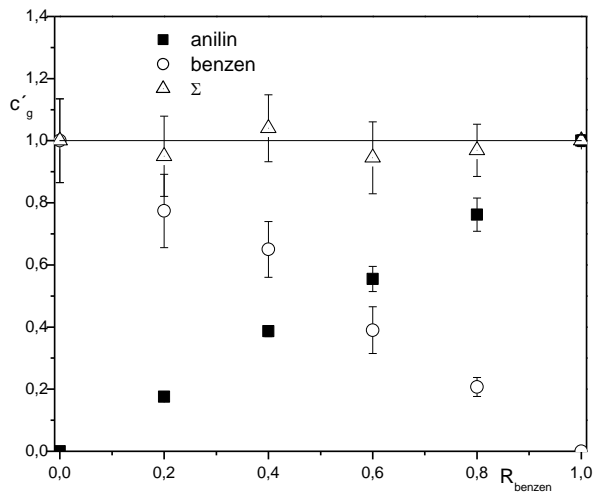
Graf 5.2.5.1. Směs anilin - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na Σc_l pro různá R_{anilin}



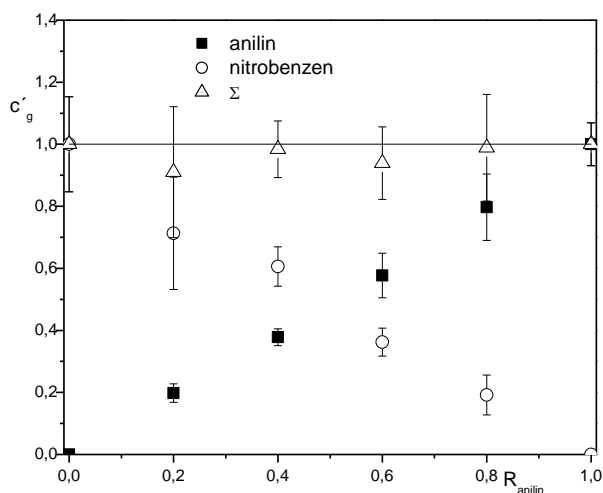
Graf 5.2.5.2. Směs anilin - nitrobenzen: závislost $\Sigma c'_g$ na R_{anilin} pro různá Σc_l



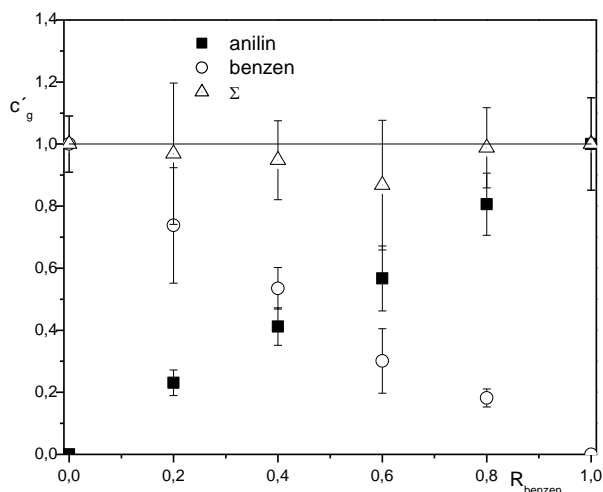
Graf 5.2.5.3. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{anilin} pro $\Sigma c_l = 0,001$ mol/l



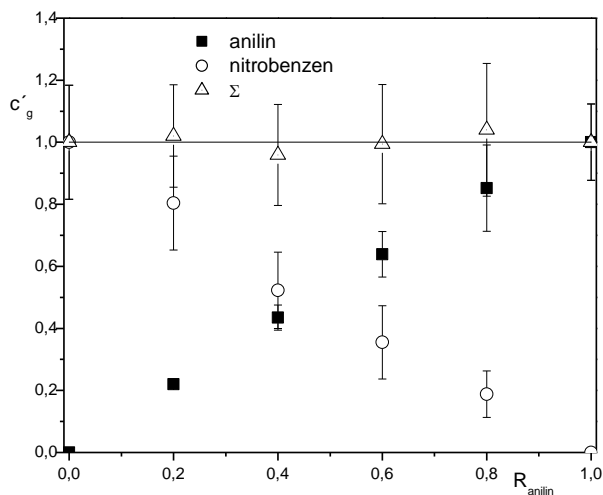
Graf 5.2.5.4. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{anilin} pro $\Sigma c_1 = 0,002 \text{ mol/l}$



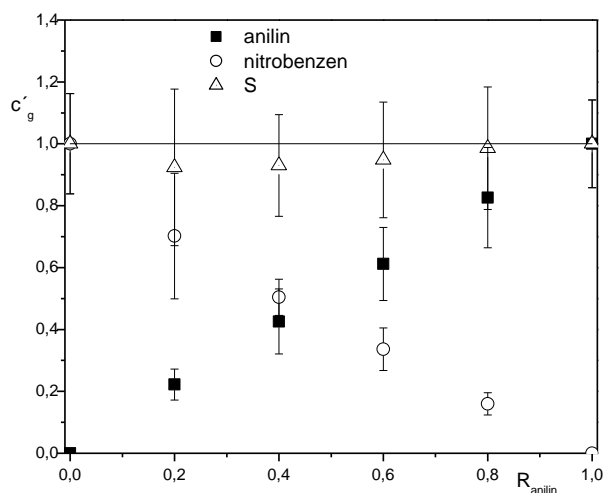
Graf 5.2.5.5. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{anilin} pro $\Sigma c_1 = 0,004 \text{ mol/l}$



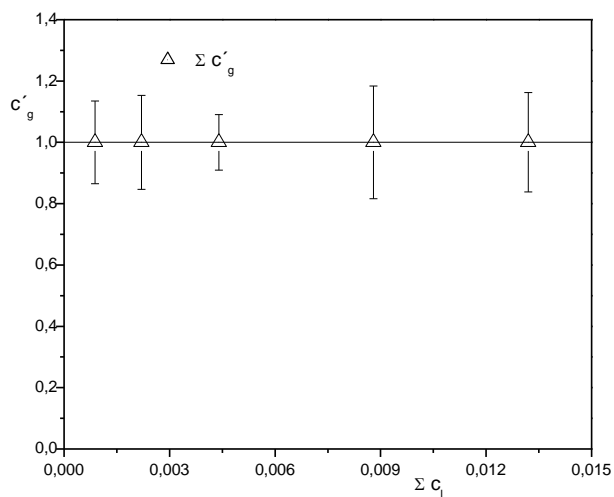
Graf 5.2.5.6. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{anilin} pro $\Sigma c_1 = 0,009 \text{ mol/l}$



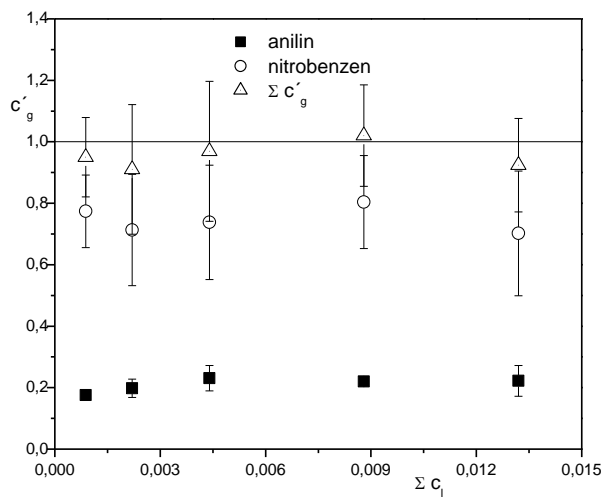
Graf 5.2.5.7. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na R_{anilin} pro $\Sigma c_1 = 0,013 \text{ mol/l}$



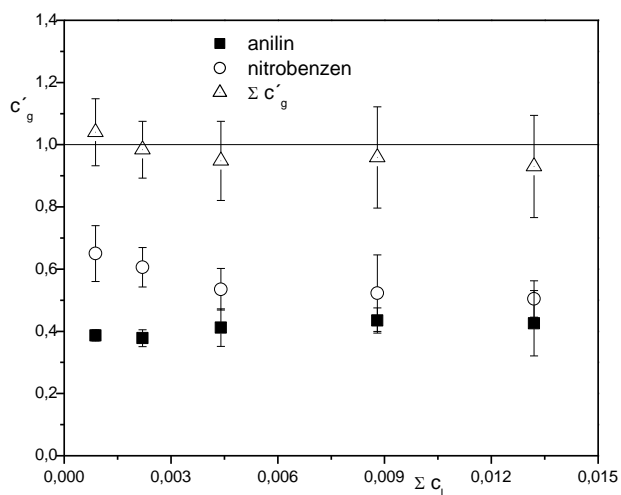
Graf 5.2.5.8. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{anilin}} = 0$



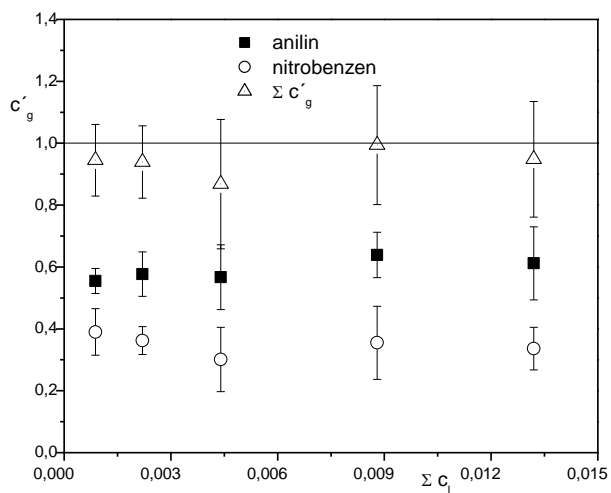
Graf 5.2.5.9. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_1 pro $R_{\text{anilin}} = 0,2$



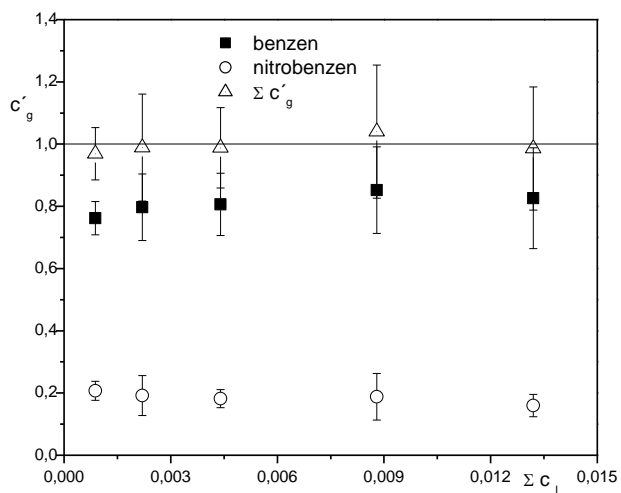
Graf 5.2.5.10. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{anilin} = 0,4$



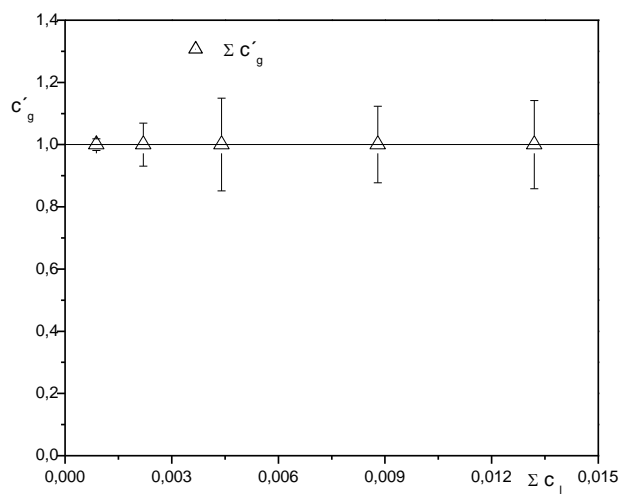
Graf 5.2.5.11. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{anilin} = 0,6$



Graf 5.2.5.12. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{anilin} = 0,8$



Graf 5.2.5.13. Směs anilin - nitrobenzen: závislost c'_g na Σc_i pro $R_{anilin} = 1$



6. ZÁVĚR

Cílem práce bylo testovat aditivitu chemických látek v rozdělovacím procesu mezi dvě fáze a porovnat koeficienty distribuce chemikálií K_{mix} pro různé molární zlomky směsi s indexem akutní toxicity EC50 této směsi pro oligochaeta *Tubifex tubifex*.

Byly studovány směsi průmyslových rozpouštědel: benzenu, ethanolu, anilinu a nitrobenzenu. Odchylky od aditivity byly nalezeny u rozdělovacích koeficientů všech sledovaných směsí. Nejvýraznější v případě benzenu i ethanolu ve směsi benzen – ethanol, nejmenší změny byly zaznamenány ve směsi ethanol – anilin.

Ze získaných výsledků vyplývá, že rozdělovací koeficient K_{mix} se u měřených směsí chemikálií mění podobně jako akutní toxicita. Jednoznačně je tomu v případě K_{mix} směsi benzen – ethanol, v případě celkové normalizované koncentrace v plynné fázi u směsi benzen – anilin. Lze předpokládat, že tento parametr je použitelným deskriptorem změn chování akutní toxicity pro směsi látek.

V druhé části práce bylo cílem zjistit, jak se rozdělení chemických látek mezi kapalnou a plynnou fázi mění s koncentrací a složením směsi. Byly nalezeny změny v rozdělení složek směsí mezi kapalnou a plynnou fázi. Největší odchylky byly nalezeny u směsí benzen – ethanol a benzen – anilin. Žádné odchylky nebyly naopak nalezeny u směsi anilin – nitrobenzen. Nalezené odchylky nebyly tak výrazné jako v první části práce. Nelze také vysledovat závislost rozdělovacího koeficientu na složení a koncentraci roztoků jednotlivých směsí. Je však možné, že po zvýšení koncentračního rozsahu experimentů by byly dostupné další znalosti o chování těchto směsí.

Vhodným pokračováním výzkumu by bylo provést měření parametru K_{mix} pro další binární směsi, případně se dále věnovat podobným experimentům s rozdělovacím koeficientem mezi n-oktanol a vodu.

7. SOUHRN

1. Byly vybrány čtyři látky – benzen, ethanol, anilin a nitrobenzen.
2. Jako deskriptor složení binární směsi byl využit molární zlomek.
3. Jako fyzikálně chemická vlastnost směsí byl zvolen rozdělovací koeficient mezi vodný roztok a plynnou fází nad ním.
4. Byla vyvinuta metoda stanovení koncentrace látek v plynné fází nad roztokem směsi pomocí plynové chromatografie a mikroextrakce tuhou fází.
5. Byly změřeny závislosti rozdělovacího koeficientu K_{mix} na složení směsi za koncentrace roztoků rovné EC50 této směsi měřené na nitěnkách.
6. Byly porovnány změny rozdělení kapalina – pára a akutní toxicity se složením směsí.
7. Ukázalo se, že celková koncentrace složek směsi v rovnovážné plynné fází závisí na složení směsi podobně jako akutní toxicita měřená jako EC50 pro zástavu pohybu nitěnek.
8. Byly změřeny závislosti rozdělení složek binárních směsí na složení a koncentraci směsi.
9. Změny v rozdělení byly testovány jako odchylky normalizované sumy koncentrací v plynné fází $\Sigma c_g'$ od aditivity. Hodnoty parametru $\Sigma c_g'$ jsou zde totožné s hodnotami K_{mix} jednotlivých měřených směsí.
10. Byly nalezeny odchylky od aditivity u čtyř z pěti testovaných směsí. U směsí benzen – ethanol, benzen – anilin, benzen – nitrobenzen a ethanol – anilin se projevují odchylky od aditivity. Směs anilin – nitrobenzen je aditivní v celém rozsahu měřených koncentrací.

8. SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

BA	biologická účinnost (biological activity)
c_f	koncentrace látky absorbované na vlákně (mol/l)
c_g	koncentrace v plynné fázi v rovnováze (mol.l ⁻¹)
c_l	koncentrace v kapalně fázi v rovnováze (mol.l ⁻¹)
c_{lA}	koncentrace látky A v kapalně fázi v rovnováze (mol.l ⁻¹)
c'	normalizovaná koncentrace (bezrozměrná)
c_0	koncentrace látky odpovídající koncentraci EC50 v kapalně nebo plynné fázi v rovnováze
$\Sigma c'_g$	součet normalizovaných molárních koncentrací obou chemikálií ve směsi v plynné fázi v rovnováze
$\Sigma c'_l$	součet normalizovaných molárních koncentrací obou chemikálií ve směsi v kapalně fázi v rovnováze
EC50	efektivní koncentrace látek, která způsobí inhibici pohybu u 50% jedinců testované populace (mol.l ⁻¹)
EC50'	normalizovaná efektivní koncentrace látek, která způsobí inhibici pohybu 50% jedinců testované populace (bezrozměrné)
FID	plamenoionizační detektor (flame ionization detector)
GC	plynová chromatografie (gas chromatography)
IGC50	koncentrace inhibující růst kolonie - Inhibition Growth Concentration
K_H	konstanta Henryho zákona
K_{fg}	distribuční konstanta látky mezi vláknem a parním prostorem
K_{hl}	distribuční konstanta látky mezi parním prostorem a kapalinou
K_{fl}	distribuční konstanta látky mezi vláknem a vodným roztokem
K_{mix}	normalizovaný koeficient distribuce chemikálií v binární směsi mezi dvě nemísitelné fáze v rovnováze; v tomto případě mezi vodný roztok a plynnou fázi, $\Sigma c'_g / \Sigma c'_l$
K_{ow}	rozdělovací koeficient látky mezi n-oktanol a vodu
$L_{1/2}$	interval spolehlivosti pro 95%-ní hladinu významnosti
LOD	detekční limit (limit of detection)
LOQ	kvantifikační limit (limit of quantification)
M	molekulová hmotnost (g/mol)
n	látkové množství (mol)
n_f	množství analytu extrahovaného na vlákno

n_l	množství analytu v roztoku
n_g	množství analytu v rovnovážné plynné fázi
NPK	nejvyšší přípustná koncentrace
P_A	rozdělovací koeficient látky A mezi kapalnou a plynnou fázi
P'_A	normalizovaný rozdělovací koeficient látky A mezi kapalnou a plynnou fázi
PA	polyakrylát
PBPK/PD	physiologically based pharmacokinetic / pharmacodynamic modelling
PDMS	polydimethylsiloxan
p_g, p_l, p_f	rovnovážné tenze par analytu v jednotlivých fázích extrakčního systému
P_i	rozdělovací koeficient mezi kapalnou a plynnou fázi binární směsi dvou čistých organických látek
QSAR	kvantitativní vztahy mezi chemickou strukturou a biologickou účinností (z angl. Quantitative Structure Activity Relationships)
r	korelační koeficient
R'_A	normalizovaný molární zlomek látky A v binární směsi solutů
R-graf	závislost závislé veličiny na molárním zlomku
$R_{l(i)}$	molární zlomek složky i směsi v kapalně fázi
$R_{g(i)}$	molární zlomek složky i směsi v plynné fázi
RSO	relativní směrodatná odchylka
SO	směrodatná odchylka
SPE	extrakce tuhými fázemi (solid phase extraction)
SPME	mikroextrakce tuhými fázemi (Solid Phase MicroExtraction)
t_s	čas sorpce
V_f	objem absorbentu na SPME vlákne (dm ³)
μ_g, μ_l, μ_f	chemické potenciály analytu v jednotlivých fázích extrakčního systému
μ^0	chemické potenciály analytu za standardního tlaku

Předmětová hesla

QSAR, EC50, GC, SPME

Klíčová slova

Akutní toxicita, predikční toxikologie, alternativní testování, test *Tubifex tubifex*, rozdělení složek směsi mezi plynnou a kapalnou fázi, plynová chromatografie, mikroextrakce tuhými fázemi, binární směsi chemikálií, benzen – ethanol, benzen – anilin, benzen – nitrobenzen, anilin – nitrobenzen, ethanol – nitrobenzen, ethanol – anilin

9. PUBLIKAČNÍ A PREZENTAČNÍ ČINNOST

1. M. Tichý, J. Reitmajer, M. Rucki, Z. Roth, I. Hanzlíková, L. Felzl: Acute Toxicity Testing of binary Mixtures of Chemicals and Partition Coefficients. *Biologia*, **60**, 113-117 (2005)
2. J. Reitmajer, L. Felzl, Z. Roth, M. Tichý: Distribution of compounds in binary mixtures between their aqueous and gaseous phases (in Czech). *Chem. Listy*, **100**, 42-47 (2006)
3. M. Tichý, V. Bořek-Dohalský, M. Rucki, J. Reitmajer, L. Felzl: Risk assessment of mixtures: possibility of prediction of interaction between chemicals. *Intern. Arch. Occup. Environ. Health*, **75** (Suppl.) (2002), 133-136
4. M. Tichý, M. Rucki, V. Bořek-Dohalský, J. Reitmajer, L. Felzl: Chemical mixtures and Risk Assessment – Hazard identification as the First Possible Error, v CD publikaci Alternatives in Chemical Risk Assessment (M. Tichý, A.P. Worth, M.E. Haldeer, red.) ECVAM JRC EC, National Institute of Public Health, Praha, ISBN 802-7071-208-2, S.P.I.02.147, 2003
5. M. Tichý, L. Felzl, J. Reitmajer, M. Rucki: Alternative Integrated Method for Acute Toxicity Testing. Sborník „22. vedecká konferencia Priemyselná toxikológia 02“, Slovenská Lupča, Slovensko, květen 2002, ISBN 802-968011, ISSN 1335-3152
6. M. Tichý, L. Felzl, M. Rucki, J. Reitmajer, I. Hanzlíková: Stanovení akutní toxicity: plynová chromatografie a červi jako alternativní metody. *Chem. Listy* **96**, 5082-524 – SP – 32 (2002) Sborník 54. sjezdu chemických společností, Brno, 2002
7. L. Felzl, V. Bořek-Dohalský, J. Reitmajer, M. Rucki, M. Tichý: Alternativní metody určení akutní toxicity binárních směsí. Sborník 14. International Conference on Chromatographic Method and Human Health. 12.-15. 11. 2001, Piešťany
8. M. Tichý, V. Bořek-Dohalský, J. Reitmajer, M. Rucki, D. Matoušová: Test with worms *Tubifex Tubifex* and gas/liquid distribution coefficients: acute toxicity of mixtures of chemicals. Sborník z International Symposium on Promotion of Three R's Concept to Animal Experimentation – ALTERNATIVES 2001, 4.-5. 6. 2001, Praha

9. M. Tichý, V. Bořek-Dohalský, M. Rucki, J. Reitmajer, L. Felzl: Risk assessment of mixtures: possibility of prediction of interaction between chemicals. Sborník MEDICHEM Congress 2001, 3.-6. 9. 2001, Praha, str. 24
10. L. Felzl, J. Reitmajer: Směsná sorpce při analýzách SPME. Ve sborníku „Pokroky v chromatografii a elektroforéze 02 – Chiranal 2002“. Olomouc, 24.-27. 6. 2002
11. M. Rucki, M. Tichý, J. Reitmajer,: Akutní toxicita binární směsi benzen-ethanol a rozdělovací koeficient oktanol/voda benzenu a ethanolu. Ve sborníku „8. mezioborová česko-slovenská toxikologická konference“, Praha 3.-5. 9. 2003
12. M. Tichý, M. Rucki, Z. Roth, J. Reitmajer, L. Felzl: Toxicita směsí. *Chem. Listy* **97**, 810 (2003). Sborník 55. sjezdu chemických společností, Košice, 2003
13. J. Reitmajer, M. Rucki, M. Tichý, L. Felzl: Změny rozdělovacích koeficientů se změnou složení směsi benzen – ethanol. *Chem. Listy* **97** (2003), 810. Sborník 55. sjezdu chemických společností, Košice, 2003

10. POUŽITÁ LITERATURA

1. H. I. Zeligler: *Archives of Environmental Health: An international Journal* **58** (2003), 23-29
2. Sbírka zákonů ČR: Zákon o životním prostředí č. 17/1992
3. Sbírka zákonů ČR: Zákon o nebezpečných chemických látkách a přípravcích č. 157/1998
4. M. Tichý.: Účinnost xenobiotik a chemická struktura, Avicenum, Praha, 1983.
5. R. S. H. Yang, R. S. Thomas, D. L. Gustafson, J. Campaign, S. A. Benjamin, H. J. M. Verhaar, M. M. Mumtaz: *Environ Health Perspect* **106** (1998), 1385-1393
6. Complex mixtures, National Academy Press, Washington D.C., 1988
7. M. Tichý, M. Rucki: *Prac. Lék.* **48** (1996), 225
8. M. Tichý, M. Cikrt, Z. Roth, M. Rucki: *SAR QSAR Environ. Res.* **9** (1998), 155-169
9. M. Tichý, M. Rucki, I. Hanzlíková, R. Čihák, A. Dynterová, L. Feltl, Z. Roth : *České pracovní lékařství* **3** (2005), 137
10. V. Bořek-Dohalský: Disertační práce, 2006
11. M. Rucki: Disertační práce, 1998
12. M Tichý, V. Bořek-Dohalský, M. Rucki, J. Reitmajer, L. Feltl.: *Int. Arch. Occup. Environ Health* **75** (2002), Suppl. S133-S136.
13. M. Tichý, J. Reitmajer, M. Rucki, Z. Roth, I. Hanzlíková, L. Feltl: *Biologia, Bratislava* **60/Suppl.17**, (2005) 113-117
14. M. Tichý, V. Bořek-Dohalský, D. Matoušová, Z. Roth, M. Rucki, L. Feltl: *SAR QSAR Environ. Res.* **13** (2002), 261
15. S. Mášová: Diplomová práce, 2003
16. M. Tichý, Z. Roth, K. Bláha, A. P. Worth: *Chem. Listy* **99** (2005), 675-681
17. S.F. Free, J.W. Wilson: *J. Med. Chem.* **7** (1964), 393-399
18. B. W. Richardson: *Med. Times and Gazette* **2** (1869) , 703
19. M.C. Richet: *C. R. Soc. Biol.* **45** (1893), 775
20. E. Overton: *Z. phys. Chem.* **22** (1897), 189
21. H. Meyer: *Arch. Expt. Pathol. Pharmacol.* **42** (1899), 109
22. J. Traube: *Arch. Ges. Physiol. (Plügers)* **105** (1904), 541
23. H. Fühner: *Arch. Expt. Pathol. Pharmacol.* **52** (1904), 1
24. W. Moore: *J. Agr. Res.* **9** (1917) 371
25. J. Ferguson: *Proc. Roy. Soc., Ser.B* **127** (1939), 387,

26. J. C. McGovan: *Arch. Ind. Hlth.* **11** (1955), 315
27. R.A. Lehfeldt: *Phil. Mag.* **46** (1898), 42-59
28. B.H. Carrol, G.K. Rollefson, J.H. Mathews: *J. Am. Chem. Soc.* **47** (1925), 1785-1791
29. E. I. Lyublina: *Gig. Truda Profzabol.* č.2 (1958) 1.
30. T. C. Bruice, N. Kharasch, R. J. Winzler: *Arch. Biochem. Biophys.* **62**, 305, 1956.
31. R. Zahradník, M. Chvapil: *Experientia* **16** (1960), 511
32. C. Hansch, T. Fujita: *J. Am. Chem. Soc.* **86**, (1964), 1616
33. www.sciencedirect.com, stav k 18.2. 2007
34. M. R. Lovern, M. E. Maris, P. M. Schlosser: *Carcinogenesis* **20** (1999), 1511-1520
35. W. R. Reeves, R. Barhoumi, R. C. Burghardt, S. L. Lemke, K. Mayura, T. J. McDonald, T. D. Phillipus, K. C. Donnelly: *Environ. Sci. Technol.* **35** (2001), 1630-1636
36. M. A. Azenha, R. Evangelista, F. Martel, M. T. Vasconcelos: *Food and Chemical Toxicology* **42** (2004), 1431-1442
37. P. G. Wells, S. Abernethy, D. Mackay: *Chemosphere* **11** (1982), 1071-1086
38. Z. Lin, P. Zhong, K. Yin, L. Wang, H. Yu: *Chemosphere* **52** (2003), 1199-1208
39. M. Castillo, D. Barcello: *Analytica Chimica Acta* **426** (2001), 253-264
40. J. Pauluhn: *Experimental and Toxicologic Pathology* **57** (2005), 111-128
41. Dougal J. N., Robinson P.J.: *The Science of The Total Enviroment* **288** (2002), 23-30
42. Z. Lin, P. Zhong, X. Niu, K. Yin, H. Yu, J. Du: *Marine Pollution Bulletin* **50** (2005), 617-623
43. Y. Lin, P. Shi, S. Gao, L. Wang, H. Zu: *Water research* **37** (2003), 2223-2227
44. K. V. Balakin, N. P. Savchuk, I. V. Tetko: *Current Medicinal Chemistry* **13** (2006), 223-241
45. J. M. Luco, E. Marchevsky: *Current Computer-aided Drug Design* **2** (2006), 31-55
46. J. Marhold: *Přehled průmyslové toxikologie, Organické látky*, Avicennum Praha 1986
47. C.I. Bliss: *Ann. Appl. Biol.* **26** (1939), 585-615.
48. R.L. Plackett, P.S. Hewlett: *Ann. Appl. Biol.* **35** (1948), 347-358.
49. P.S. Hewlett, R.L. Plackett: *Ann. Appl. Biol.* **38** (1950), 527

50. R.L. Plackett, P.S. Hewlett: *J.R. Statist. Soc.* **14** (1952), 141-163
51. S. Loewe, H. Muischnek: *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **114** (1926), 313
52. Z. Lin, H. Yu, D. Wei, G. Wang, J. Feng, L. Wang: *Chemosphere* **46** (2002), 305-310
53. R. L. Plackett, P. S Hewlett: *Biometrics* **23** (1967), 27
54. F. Chen, J. Holten-Andersen, H Tyle: *Chemosphere* **26** (1993), 1325-1354
55. J.B. Sprague, B.A. Ramsay: *J. Fish. Res. Board Can.* **22** (1965), 425-432
56. M. Rucki, M. Tichý: *QSAR & Combinatorial science* **25**, (2006) 310-316
57. G. Poch: *Arzneim. Forsch.* **31** (1981), 1135-1140.
58. G. Poch. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **68** (1990), 682-688
59. M. Tichý, V. B. Dohalský, D. Matoušová, M. Rucki, L. Feltl, Z. Roth: *SAR and QSAR in Enviromental Research* **13**, 261, 2002
60. H. Könemann: *Toxicology* **19**, (1981) 229
61. J. Hermens, P. Leeuwangh, A. Musch. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **8** (1984), 388-394
62. J. Hermens, F. Busser, P. Leeuwangh, A. Musch: *Ecotoxicology and Enviromental Safety* **9** (1985) 17-25
63. M. Tichý: *Čas. Lék. čes.* **121** (1982),1075
64. M. Tichý, V. Trčka: *Čas. Lék. čes.* **122**, (1983) 936
65. D. Delistraty: *Ecotoxicology and Enviromental Safety* **46** (2000), 225-233
66. M. Tichý, E. Benfenati, M. Rucki, L. Feltl: *Prac. Lék.* **50** (1998), 66
67. M. Štěpánek a kol.: *Biologické metody vyšetřování vod ve zdravotnictví*, Avicenum, Praha, 1982, str. 355.
68. Oborová norma „*Test akutní toxicity na rybách a dalších vodních živočiších*“, ON 46 68 07, ÚNM Praha, 1989
69. M. Chvapil, R. Zahradník, B. Čmucharlová: *Arch. Int. Pharmacodyn* **135** (1962), 331
70. J. Kizlink: *Chemical Papers* **55** (1) (2001), 53
71. P. Egeler, M. Meller, J. Roembke, P. Spoerlein, B. Streit, R. Nagel: *Hydrobiologia* **463** (2001), 171
72. A. Fargasova: *Biologia* **52** (3) (1997), 405
73. C. S. Weil: *Biometrics* **8** (1952), 249
74. M. Chvapil, R. Zahradník, B. Čmucharlová: *Arch. Int. Pharmacodyn.* **135** (1962), 330-343.

75. C.L. Russom, S.P. Bradbury, S.J. Broderius, D.E. Hammermeister, R.A.Drummond: *Environ. Tox. Chem.* **16** (1997), 948-968.
76. M. Tichý, V. Bořek-Dohalský, M. Rucki: Worms (*Tubifex tubifex*) and partition coefficients for estimation of acute toxicity. V knize: *Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Experimentation*. (M. Balls, A.-M. van Zeller, M.E. Halder, red.), ISBN 0-444-50529-6, Elsevier Science B.V., 2000, str. 513-520
77. S.R.M. Ellis: *Trans Instn. Chem. Engrs.* **30** (1952), 58-64.
78. G. Kortüm, H.J. Freier, F. Woerner: *Chemie Ing. Techn.* **25** (1953), 125-133
79. J. F. Pankow, J. H. Seinfeld, W. E. Asher, G. B. Erdakos: *Environ. Sci. Technol.* **35** (2001), 1164-1172
80. T. F. Parkerton, M. A: Stone, D. J. Letinski: *Toxicology Letters* **112-113** (2000), 273-282
81. M. Rucki: Diplomová práce, 1994
82. R. Čabala, J. Svobodová, L. Feltl, M. Tichý: *Chromatografia* **34** (1992), 601
83. M. Tichý, V. Bořek-Dohalský. M. Rucki, L. Feltl: Predictive Toxicology and Mixtures of Chemicals. V knize: *Predictive Toxicology of Chemicals: Experiences and Impact of AI Tools* (G.C. Ginni, A.R. Karitzky, red), ISBN 1-57735-073-1, AAI Press, Menlo Park, CA, 1999, str.152-155
84. M. Tichý, M. Rucki, V. Bořek-Dohalský, L. Feltl: Partition Coefficients of Binary Mixtures of Chemicals: Possibility for the QSAR Analysis. V knize: *Molecular Modeling and Prediction of Bioactivity* (K. Gundertofte, F.S. Jørgensen, red.), ISBN 0-306-46217-6, Kluwer Academic/Plenum Publisher, Mew York, 2000, str. 311-313
85. J. C. Dearden, M.T.D. Cronin, Y.-H. Zhao, O. A. Raevsky: *Quant. Struct.-Act. Relat.* **19** (2000), 3-8
86. T. W. Schultz, G. D. Sinks, M. T. D. Cronin: *Aquatic Toxicology* **39**, (1997) 267-278
87. C. L. Arthur, D. W. Potter, K. D. Buchholz, S. Motlagh, J. Pawliszyn: *LC-GC* **10** (9) (1992), 656
88. C. L. Arthur, L. M. Killam, S. Motlagh, L. Lim, D. W. Potter, J. Pawliszyn: *Environ. Sci. And Technol.* **26** (1992), 979
89. M. Chen, Y. Yin, Ch. Tai, Q. Zhang, J. Liu, G. Jiang: *Chinese Science Bulletin* **51**, (2006) 1648-1651
90. K. Daučík: Chemické laboratorne tabulky, Alfa Bratislava 1984

91. R. Sander: Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry, Air Chemistry Department, Version 3, 1999,
<http://www.mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html>
92. J. Paleček, L. Linhart, J. Horák: Toxikologie a bezpečnost práce v chemii, VŠCHT, 1996
93. J. S. Rutchik: eMedicine – Organic Solvents, (2006)
www.emedicine.com/neuro/topic285.html
94. M. Tichý: Toxikologie pro chemiky : toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa, Karolinum, Praha 2003
95. J. Zýka a kol.: Analytická příručka, 1. díl, SNTL, Praha 1979
96. E. Smolková, L. Feltl: Analýza látek v plynném stavu, SNTL Praha 1991
97. E. Smolková, L. Feltl, V. Pacáková: Plynová chromatografie, SPN Praha 1975
98. J. Pawliszyn: Solid Phase Microextraction: Theory and Practice, Wiley-VCH, New York 1997
99. J. Pawliszyn (ed.): Application of Solid Phase Microextraction, Royal Soc. Chem., Hertfordshire 1999
100. R. A. Pierotii, A. A. Liabastre: *U.S. Nat. Tech. Inform. Serv.*, PB Rep. 21163, (1972)
101. F. R. Groves: *Environ. Sci. Technol.* **22** (1988), 282-286
102. E. R. Washburn, V. Hnizda, R. Vold: *Journal of Am. Chem. Soc.* **53** (1931), 3237
103. W. D. Bancroft, S. S. Hubbard: *Journal of Am. Chem. Soc.* **64** (1942), 347
104. D. Harvey: Modern analytical chemistry, McGraw-Hill Boston, 2000
105. D.W. Potter, J. B. Pawliszyn: *Journal of Chromatography* **625** (1992), 247-255
106. L.S. Debruin, P. D. Josephy, J. B. Pawliszyn: *Anal. Chem.* **70** (1998), 1986-1992
107. R. Eisert, K. Levsen: *J. Chromatogr. A* **733**, (1996) 741
108. C. L. Arthur, K. Pratt, S. Motlagh, J. Pawliszyn: *High. Res. Chromatogr.* **15** (1992), 741
109. Petr Prikryl: Diplomová práce, 2000
110. G. S. Nunes, M. L. Ribeiro, L. Polese, D. Barcelo: *J. Chromatogr. A* **795** (1998), 43-51
111. L. Tuduri, V. Desauziers, J. L. Fanlo: *J. Microcolumn Separations* **12** (10), (2000), 550-557
112. Supelco Bulletin 928, 2001, Sigma-Aldrich
113. J. Namiesnik, B. Zygmunt, A. Jastrzebska: *J. Chromatogr. A* **855** (2000), 405-418

114. www.sigmaaldrich.com
115. Supelco Bulletin 929, 2001, Sigma-Aldrich
116. L. Feltl, J. Reitmajer: Směsná sorpce při analýzách SPME. Ve sborníku „Pokroky v chromatografii a elektroforéze 02 – Chiranal 2002“. Olomouc, 24.-27. 6. 2002
117. K. Eckschlager: Chemometrie, Karolinum Praha 1991
118. M. Meloun, J. Militký: Statistické zpracování experimentálních dat, Plus s.r.o., Praha 1994