

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

PROBLEMATIKA PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN VE SLOŽKÁCH
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE

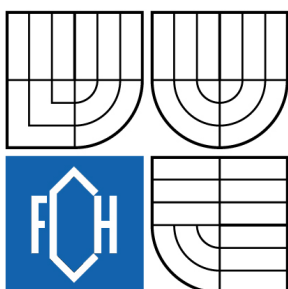
AUTHOR

STANISLAV KALÁŠEK

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

PROBLEMATIKA PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN VE SLOŽKÁCH ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

ISSUES OF PERFLUORINATED COMPOUNDS IN THE ENVIRONMENTAL COMPARTMENTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE
DIPLOMA THESIS

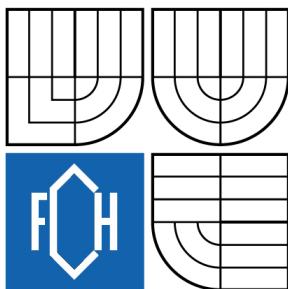
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

STANISLAV KALÁŠEK

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce

FCH-DIP0248/2007

Akademický rok: **2007/2008**

Ústav

Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí

Student(ka)

Kalášek Stanislav

Studijní program

Chemie a technologie ochrany životního prostředí (M2805)

Studijní obor

Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)

Vedoucí diplomové práce

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

Konzultanti diplomové práce

Název diplomové práce:

Problematika perfluorovaných sloučenin ve složkách životního prostředí

Zadání diplomové práce:

1. Zpracování literární rešerše
2. Zhodnocení metody jejich sledování v různých typech matric
3. Zpracování metody pro identifikaci a kvantifikaci těchto polutantů
4. Ověření postupu na reálných vzorcích ze životního prostředí
5. Zhodnocení výsledků

Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Stanislav Kalášek
student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis diplomanta

Poděkování:

Děkuji prof. RNDR. Miladě Vávrové, Csc. a ing. Ludmile Mravcové za obětavou pomoc při řešení problémů spojených s vypracováním diplomové práce. Dále děkuji rodičům za výchovu a finanční pomoc při studiu.

SOUHRN

Perfluorované látky (PFASs) jsou syntetické sloučeniny, které byly a stále jsou používány v řadě průmyslových aplikací. Díky únikům do životního prostředí a následné distribuci jsou dnes detekovatelné ve všech typech matric životního prostředí, kde vykazují vysokou míru perzistence a bioakumulace.

Cílem této diplomové práce bylo zpracování literární rešerše o těchto látkách, zahrnující posouzení jejich chemických, fyzikálních a environmentálních vlastností a zhodnocení metod jejich sledování v různých typech matric. Byla zpracována metoda pro jejich identifikaci a kvantifikaci ve vodě a ověření metody na reálných vzorcích životního prostředí.

Klíčová slova:

Perfluoroalkylované sloučeniny (PFASs), vysokorozlišovací plynová chromatografie (HRGC), hmotnostní spektrometrie (MS), povrchová voda, odpadní voda.

SUMMARY

Perfluoroalkylated substances (PFASs) are being used in various industrial applications. They are detectable in all types of environmental matrices thanks to leak and distribution into environment where they show out high level of persistence and bioaccumulation.

Aim of this diploma thesis was to elaborate literature search about these substances. Appreciation of chemical, environmental, physical characteristics of these substances and evaluation of observation methods in various types of matrices is included. Also methods for identification and quantification in water and method verification on real environmental samples is included.

Key words:

Perfluoroalkylated substances (PFASs), high-resolution gas chromatography (HRGC), surface water, waste water

OBSAH

OBSah	4
1. Úvod	6
2. Cíl práce	7
3. Současný stav řešené problematiky	8
3.1 Stručná charakteristika perfluoralkylovaných sloučenin	8
3.2 Výroba a využití perfluoralkylovaných sloučenin	8
3.3 Fyzikální a chemické vlastnosti	13
3.4 Únik do životního prostředí	13
3.5 Osud perfluoroalkylovaných látek v životním prostředí	16
3.6 Toxikologické vlastnosti	20
3.7 Ekotoxikologické vlastnosti	21
3.8 Analytická chemie perfluorovaných sloučenin v různých typech matric	22
4. Experimentální Část	34
4.1 Používané přístroje, zařízení a software	34
4.2 Chemikálie, spotřební materiál a standardy	36
4.3 Studovaná matrice	36
4.4 Pracovní postupy	37
5. Výsledky a diskuze	41
5.1 Kalibrační křivka, mez detekce, mez stanovitelnosti	41
5.2 Spikování vody	42
5.3 SPE Extrakce	42
5.4 Extrakce kapalina kapalina (LLE)	45
5.5 Porovnání SPE a LLE	48
5.6 Možná adsorbce PFAS na sklo	49
5.6 Výskyt sledovaných analytů v reálných vzorcích	51
5.7 Perfluorované látky a GCxGC-TOF-MS	68
6. Závěr	71
7. Literatura	73
8. Seznam Zkratek	78
9. Přílohy	80

1. ÚVOD

Prudký rozvoj chemie v 19. a 20. století přinesl vedle nepřehledného množství nových chemických látek, chemických přípravků a vědeckých objevů, které přispěly ke zvyšování životní úrovně lidí, také některé negativní změny, mezi kterými vystupuje do popředí zejména průnik chemických látek do životního prostředí.

Perfluoroalkylované látky jsou vedle chlorovaných a bromovaných organických látek další ze skupiny halogenovaných organických látek, které zařazujeme mezi perzistentní organické polutanty. Díky pevné vazbě mezi uhlíkem a fluorem se vyznačují vysokou stabilitou a našly široké použití v různých průmyslových odvětvích. Průmyslově se začaly vyrábět v 50. letech dvacátého století a jejich vyráběný objem se zvyšoval až do konce dvacátého století. Při výrobě a použití těchto látek docházelo k jejich úniku do životního prostředí, ve kterém díky své stabilitě přetrvávají velice dlouho bez známek degradace perfluorovaného řetězce. Současně dochází rovněž k jejich distribuci do různých složek životního prostředí a k jejich akumulaci v živých organizmech. Řadí se mezi skupinu prioritních organických polutantů (POP's) a svými environmentálními vlastnostmi jsou podobné chlorovaným organickým látkám, jako jsou polychlorované bifenyly (PCB), nebo chlorované pesticidy. V současnosti jsou zástupci těchto látek detekovány ve všech typech matric ze životního prostředí, a to nejen v průmyslově rozvinutých a hustě osídlených oblastech, ale také v oblastech značně odlehlých, jako je Antarktida, kam se tyto analyty dostávají díky dálkovému transportu.

2. CÍL PRÁCE

Předložená diplomová práce je zaměřena na problematiku výskytu nových prioritních organických polutantů, perfluorovaných sloučenin, tvořících závažné kontaminanty přítomné ve složkách životního prostředí. Protože se jedná o chemické sloučeniny, které nejsou ještě dlouhodobě sledovány, bylo zapotřebí se kromě experimentální části zaměřit také na získání dostatečného množství literárních údajů o chování a výskytu těchto sloučenin. Stejně jako u ostatních halogenovaných organických sloučenin, mohou perfluorované sloučeniny, vzhledem ke svým fyzikálně-chemickým a environmentální vlastnostem, pronikat do všech abiotických složek životního prostředí a distribuovat se do biotických matic.

Hlavní cíle předložené diplomové práce byly následující:

-  Zpracování literární rešerše
-  Zhodnocení průniku perfluorovaných látek do různých typů abiotických a biotických matic
-  Posouzení analytické problematiky související s identifikací a stanovením těchto látek, na jehož podkladě by měl být navržen vhodný analytický postup pro jejich identifikaci a kvantifikaci
-  Zpracování metody pro izolaci perfluorovaných sloučenin z environmentálních matic
-  Zpracování metody pro jejich identifikaci a kvantifikaci; její ověření na modelových systémech
-  Ověření vypracovaného metodického postupu na reálných vzorcích ze životního prostředí
-  Zhodnocení a interpretace výsledků.

3. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

3.1 Stručná charakteristika perfluoralkylovaných sloučenin

Perfluorované sloučeniny (PFCs) je společný název pro skupinu syntetických fluorovaných látek, zahrnujících i jejich oligomery a polymery. Tato skupina prioritních polutantů zahrnuje několik set sloučenin, které se dělí celkem do 23 skupin. Důležitými podskupinami jsou perfluorované organické surfaktanty a fluorované organické polymery. [3] V další části bude pozornost zaměřena výhradně na perfluoralkylované sloučeniny (PFAS), které patří mezi volatelní a semivolatilní organické polutanty. Tato skupina látek obsahuje ve své molekule hydrofobní alkylový řetězec a hydrofilní funkční skupinu. Délka alkylového řetězce je různá a v průmyslových aplikacích se nejčastěji pohybuje od 4 do 20 uhlíků. Řetězec může být lineární nebo rozvětvený. V alkylovém řetězci jsou buď všechny atomy vodíku substituovány atomy fluoru, u perfluorovaných sloučenin $\text{CF}_3\text{-(CF}_2\text{)}_n\text{-R}$, nebo část řetězce obsahuje skupiny $\text{-CH}_2\text{-}$. To jsou tzv. polyfluorované sloučeniny. Obvykle nejsou atomy fluoru substituované první dva uhlíky v alkylovém řetězci. Tuto skupinu látek můžeme vyjádřit sumárním vzorcem $\text{CF}_3\text{-(CF}_2\text{)}_n\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-R}$. Hydrofilní funkční skupinou bývá převážně sulfonová, karboxylová, alkoholová, fosfátová, sulfonamidová, nebo substituovaná sulfonamidová skupina. Podle hydrofilní funkční skupiny můžeme tyto látky rozdělit na anionogenní (například skupiny -SO_3^- , -OPO_3^- , -COO^-), neutrální (například skupiny -OH , SO_3NH_2) a kationogenní (quarterní amoniová sůl). [1]

3.2 Výroba a využití perfluoralkylovaných sloučenin

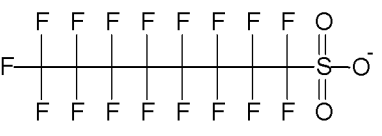
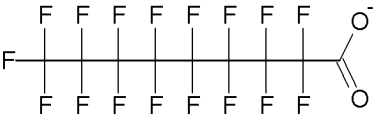
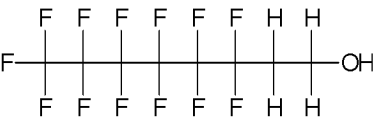
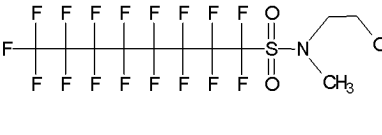
3.2.1 Výroba perfluoralkylovaných sloučenin

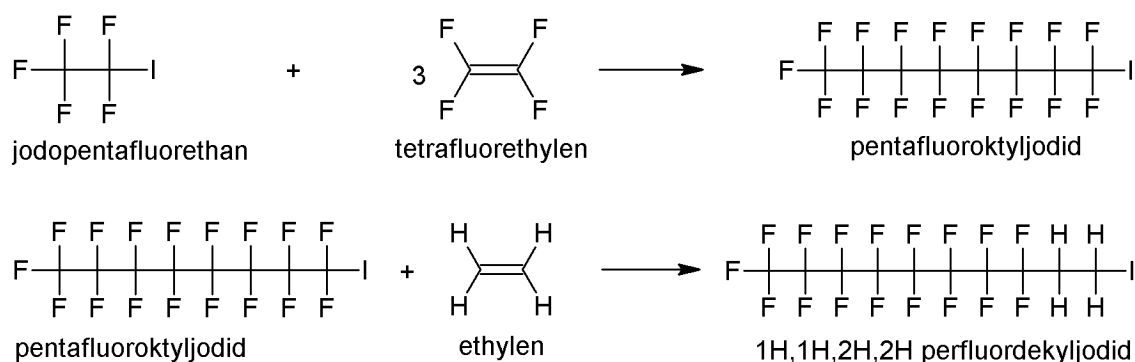
Do průmyslové výroby se dostávají po druhé světové válce a díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem nacházejí výrobky obsahující perfluorované látky uplatnění jak v průmyslu, tak v domácnostech. Jejich výroba je po celou dobu soustředěna v Evropě, USA a Japonsku. I když je známo více možností, jak perfluoroalkylované látky připravit, v průmyslové výrobě se uplatnily dva postupy výroby. Každým z postupů je možné vyrobit odlišné perfluorované sloučeniny. Produkty každé z výroby se rovněž liší svojí čistotou a cenou. Podle OECD je produkován objem PFOS a příbuzných látek 4500 tun ročně. [18]

3.2.1.1 Výroba perfluoralkylovaných sloučenin telomerací

Telomerací se vyrábějí produkty, které nejsou plně fluorované, ale mají lineární perfluorovaný alkylový řetězec s ethylenovou skupinou a s funkční skupinou. První krok reakce má charakter radikálové polymerační reakce. Jodotetrafluoroethan reaguje s n molekulami tetrafluoroethylenem, čímž vznikne perfluoroalkyl jodid. Ten v dalším kroku reakce reaguje s ethylenem, čímž se získá 1H,1H,2H,2H-perfluoroalkyl jodid. Následnou reakcí se do molekuly vpraví potřebná funkční skupina. Tímto způsobem se vyrábí lineární perfluorované řetězce. Výsledný produkt obsahuje málo nečistot, ale výroba telomerací je o mnoho dražší, než výroba elektrochemická. [2]

Tabulka I: Přehled vybraných perfluoralkylovaných sloučenin

sloučenina	zkratka	vzorec	příklad struktury
perfluoralkyl sulfonáty			PFOS 
C ₄ : perfluorobuthyl sulfonát	PFBS	C ₄ F ₉ SO ₃ ⁻	
C ₆ : perfluorohexyl sulfonát	PFHxS	C ₆ F ₁₃ SO ₃ ⁻	
C ₈ : perfluorooctyl sulfonát	PFOS	C ₈ F ₁₇ SO ₃ ⁻	
C ₁₀ : perfluorodecyl sulfonát	PFDS	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ ⁻	
perfluoralkyl karboxyláty			PFOA 
C ₈ :perfluoroktanoát	PFOA	C ₈ F ₁₅ O ₂ ⁻	
C ₁₀ :perfluordekanoát	PFDA	C ₁₀ F ₁₉ O ₂ ⁻	
C ₁₂ :perfluordodekanoát	PFDoA	C ₁₂ F ₂₃ O ₂ ⁻	
C ₁₄ :perfluortetradekanoát	PFTeDA	C ₁₄ F ₂₇ O ₂ ⁻	
polyfluorované alkoholy			6:2 FTOH 
4:2 fluorotelomer alcohol	4:2 FTOH	C ₆ F ₉ H ₅ O	
6:2 fluorotelomer alcohol	6:2 FTOH	C ₈ F ₁₃ H ₅ O	
8:2 fluorotelomer alcohol	8:2 FTOH	C ₁₀ F ₁₇ H ₅ O	
10:2 fluorotelomer alcohol	10:2 FTOH	C ₁₂ F ₂₁ H ₅ O	
perfluorsulfonamidy			NMeFOSE 
perfluorooctansulfonamid	PFOSA	C ₈ F ₁₇ SO ₃ NH ₂	
N-methyl perfluoroktansulfonamid	NMeFOSA	C ₉ F ₁₇ H ₄ SO ₂ N	
N-ethyl perfluoroktansulfonamid	NEt FOSA	C ₁₀ F ₁₇ H ₆ SO ₂ N	
N-methyl perfluoroktansulfonamidoethanol	NMeFOSE	C ₁₁ F ₁₇ H ₈ SO ₃ N	

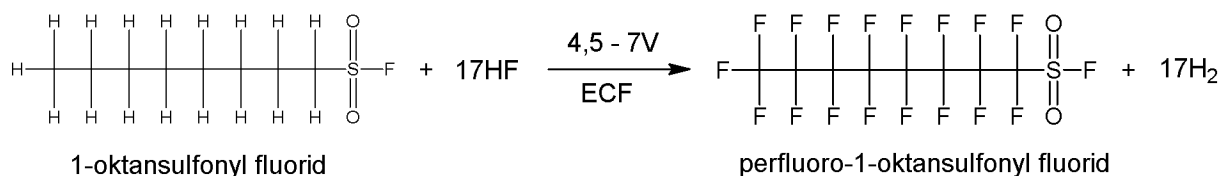


Obrázek 1: Příklad procesu telomerace

3.2.1.2 Výroba perfluoralkylovaných sloučenin elektrochemickou cestou – ECF

Touto metodou se vyrábějí lineární i větvené sloučeniny, které jsou plně fluorované. Při elektrochemické fluoraci je výchozí organická sloučenina ponořena do kapalné a bezvodé kyseliny fluorovodíkové. Na tuto směs je přiveden stejnosměrný elektrický proud o napětí 4,5

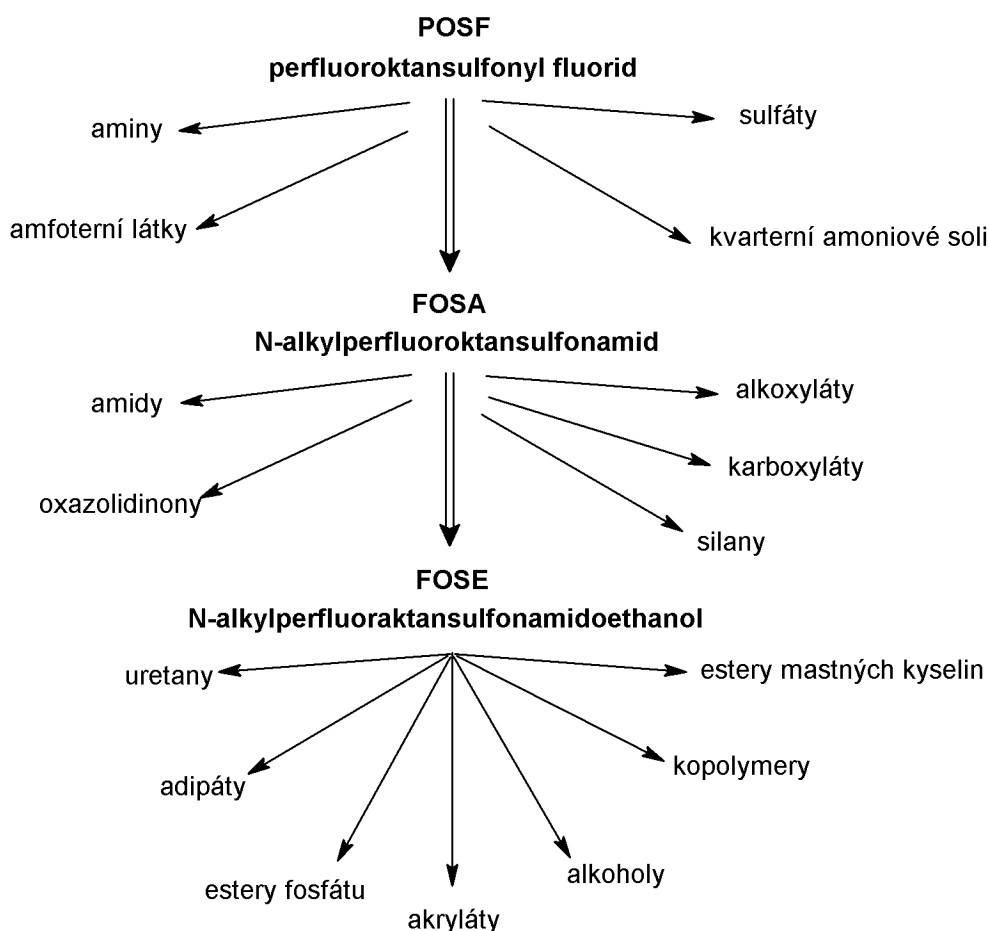
až 7V. Při tomto procesu jsou všechny atomy vodíku v organické sloučenině substituovány atomy fluoru. Jako výchozí organická sloučenina pro látky založené na bázi sulfonové kyseliny se používá příslušný alkylsulfonylfluorid, jehož elektrochemickou fluorací se vyrobí perfluoroalkylsulfonylfluorid.[2]



Obrázek 2: Elektrochemická fluorace oktanoylsulfonyl fluoridu

Následnými reakcemi známými z organické syntézy se vyrobí příslušné amidy, soli sulfonových kyselin, nebo sulfonové kyseliny samotné.

Nevýhodou tohoto procesu je, že při průchodu elektrického proudu dochází k fragmentaci organické molekuly a v produktu jsou přítomny i kratší perfluoralkylované řetězce, větvené a cyklické struktury, nebo neúplně fluorované sloučeniny. Nečistoty v konečném produktu elektrotermické fluorace mohou dosahovat až 30% a je nutné tyto směsi následně dělit.[2]



Obrázek 3: Schéma výroby perfluorovaných látek z POSF

3.2.2 Využití perfluoralkylovaných sloučenin

Díky specifickým fyzikálně-chemickým vlastnostem se dostalo perfluorovaným sloučeninám širokého uplatnění, a to jak v domácnostech, tak i v různých průmyslových odvětvích. Tyto sledované látky jsou mimořádně tepelně stabilní, patří mezi povrchově aktivní látky a vykazují odpudivost vody i olejů (hydrofobní i oleofobní charakter). Kromě dále uvedených aplikací se tyto látky používají v řadě speciálních aplikací, například i ve zdravotnictví; protože objem látek vyráběných pro tyto účely je malý, nebudou proto tyto aplikace vůbec uváděny. Díky jejich environmentálním vlastnostem, které jsou nově popisovány, omezuje se v poslední době jejich použití. V roce 2001 byla ukončena výroba perfluorovaných látek v americké společnosti 3M, která byla do té doby největším producentem těchto látek na světě.[3] V mnohých aplikacích se však perfluorované látky používají stále.

Aplikace perfluorovaných látek od kterých se upouští:

- ošetření povrchů tkanin, koberců, kůže, papíru
- příměs v nátěrových hmotách
- výroba průmyslových i domácích čistících prostředků a povrchově aktivních látek
- výroba insekticidů.

V současnosti se perfluorované látky dále používají v následujících aplikacích:

- aditiva do hasicích pěn
- aditiva do hydraulických olejů
- přísada do lázní při galvanickém pokovování a leptání
- ve fotografickém průmyslu
- při výrobě polovodičů
- ve fotolitografii.

3.2.2.1 Ošetření povrchů tkanin, koberců, kůže

Ošetření povrchů tkanin, koberců a kůže perfluorovanými látkami značně zlepšuje jejich vlastnosti při užívání. Povrch materiálu odpuzuje vodu i olej, je mnohem méně náchylný k ušpinění a nečistoty se lépe smývají. Velká část těchto aplikací je realizována na bázi polymernů. Výchozí látkou pro jejich výrobu je N-MeFOSEA (methylperfluorooctan sulfonamidoethanol). Ten na povrchu polymerizuje s močovinou nebo akrylátem a vzniklý polymer pokryje povrch materiálu. Fluorouhlikatý řetězec na povrchu uděluje materiálu výjimečné vlastnosti, výše popsané. [2]

3.2.2.2 Ošetření papíru

Papír ošetřený perfluorovanými látkami se používá zejména při balení potravin a jiných produktů. Při aplikaci perfluorovaných látek na papír dojde ke snížení povrchového napětí vláken v papíře. Takto ošetřená vlákna zabraňují pronikání a ulpívání tuků, mazadel a olejů. Používají se dva druhy látek. První druh představuje směs tvořenou mono-, di-, a tri- fosfát esterem N-EtFOSEA v poměru 10%, 85% a 5%; jako druhý druh se používá kopolymer akrylátu a N-MeFOSEA. Perfluorované látky tvoří asi 1 - 1,5% hmotnosti ošetřeného papíru. [2]

3.2.2.3 Povrchově aktivní látky

Povrchově aktivní látky na bázi perfluorovaných látek jsou obecně o mnoho účinnější při snižování povrchového napětí, než běžně používané uhlovodíkové nebo silikonové povrchově aktivní látky. Při jejich použití lze dosáhnout povrchového napětí 15-16 dyn/cm již při koncentracích 100 ppm i nižších. Navíc jsou stabilní a účinné i v extrémních podmínkách, kde již běžné surfaktanty nemohou fungovat. Snášejí silně kyselé i zásadité prostředí a odolávají silným oxidačním činidlům. Tyto látky jsou většinou založeny na bázi PFOS (perfluoroktan sulfonát). [2]

3.2.2.4 Aditiva do hasicích pěn

Hasicí pěny se používají v případech, kdy vzniklý požár není možné uhasit pouze vodou. Jedná se zejména o požáry hořlavých kapalin, autonehody, plošně rozsáhlé požáry apod. Pěna se připravuje smícháním pěnového koncentráту s vodou a má velmi malou hustotu. Po aplikaci vytvoří pěna film, který přikryje požár vrstvou neprostupnou pro vzduch a tím dochází k jeho uhašení. Hasicí koncentrát obsahuje přibližně 0,5 - 1,5 % hm. perfluorovaných látek. Jedná se zejména o perfluoralkylsulfonáty. Tyto látky snižují povrchové napětí a výrazně zlepšují pěnivost. [2]

3.2.2.5 Příměs v nátěrových hmotách

Některé firmy vyrábějí barvy a aditiva do barev na bázi fluoropolymerů. Aditiva zlepšují vlastnosti barev. Povrchy ošetřené těmito barvami odpuzují vodu a špínu. Avšak používané fluoropolymery obsahují zbytky fluorovaných uhlovodíků. Tyto nízkomolekulární látky tvoří obvykle příměs polymeru do 4% a do barvy nejsou přidávány úmyslně. Tyto příměsi nemají definované složení. [3]

3.2.2.6 Přísada do lázní při galvanickém pokovování a leptání

PFOS je přidáván do lázní pro galvanické pokovování a leptání, zejména pokud se zde pracuje s toxickými látkami a těžkými kovy (chrom). Perfluorované látky snižují povrchové napětí a omezují vznik oxidační mlhy, kterou se nebezpečné látky uvolňují do pracovního prostředí. [2]

3.2.2.7 Použití ve fotografickém průmyslu

PFOS a jemu podobné látky našly díky svým výjimečným povrchově aktivním vlastnostem uplatnění také ve fotografickém průmyslu. V malém množství se aplikují na fotografický film, fotografický papír i tiskařské desky. Zde snižují tření, omezují vznik elektrostatického náboje a odpuzují nečistoty. Při použití jiných látek se musí k dosažení stejného efektu aplikovat větší množství a kvalita fotografie se zhoršuje. [3]

3.2.2.8 Použití při výrobě insekticidů

Perfluoralkylované látky se rovněž přidávají do různých insekticidních přípravků. Jedná se zejména o přípravky na hubení různých druhů mravenců. Zde se používá především N-EtFOSA (N-ethyl perfluorooktan sulfonamid) s obchodním názvem Sulfluramid®. Tento přípravek se používá v komerčních a průmyslových prostorách. [2, 4]

3.3 Fyzikální a chemické vlastnosti

Dostupných dat o fyzikálních a chemických vlastnostech perfluorovaných látek je v literatuře méně, než je tomu u jiných halogenovaných látek. Fluor s uhlíkem tvoří nejpevnější vazbu v organické chemii (~484 kJ/mol). Síla vazby je ovlivněna další strukturou molekuly a její síla se zvyšuje s vyšším stupněm fluorace. Síla vazby uděluje perfluorovaným látkám mimořádnou stabilitu a odolnost vůči vnějším vlivům. Fluor je prvek s největší elektronegativitou (4) a vazba s uhlíkem je silně polární. Perfluorované řetězce jsou oleofobní a hydrofobní zároveň. Pokud sloučenina obsahuje ionogenní skupinu, která ve vodě disociuje, rozpustnost ve vodě se zvyšuje. Parciální tlak se značně liší u ionogenních a neionogenních látek, a to až o několik řádů. Při smíchání s organickou a vodnou fází dochází často ke vzniku fáze třetí, což dokazuje jejich oleofobitu i hydrofobitu. Perfluoralkylované látky mají mimořádné povrchově aktivní vlastnosti, vykazují velmi nízké povrchové napětí a index lomu. Vzhledem ke své relativní molekulové hmotnosti mají nízký bod varu.[5] PFCA jsou silnými kyselinami; jejich síla se blíží silným minerálním kyselinám. Rozpustnost klesá se vzrůstající délkou perfluorovaného řetězce; od C₁- C₆ jsou mísitelné s vodou ve všech poměrech, s delším uhlíkatým řetězcem jsou omezeně rozpustné.[47]

Tabulka II: Vybrané vlastnosti perfluorovaných látek

látka	CAS	Mr	bod tání [°C]	bod varu [°C]	rozpustnost ve vodě	tlak páry [Pa]	Hustota [g/cm ³]
PFBA	375-22-4	214,04	-17,5	120	mísitelná	133,3	1,64
PFHxA	307-24-4	314,06	12-14	157	mísitelná	-	1,76
PFOA	335-67-1	414,07	52-54	189	3,4 g/l	133,3	1,79
PFBS (K ⁺)	375-73-5	339,21	270,4	-	52,6-56,6 g/l	8,91x10 ⁻⁸	1,81
PFOS (K ⁺)	1763-23-1	538	>400	-	519 mg/l	3,31x10 ⁻⁴	0,6
6:2 FTOH	647-42-7	364,11		88-95	-	876	1,65
8:2 FTOH	678-39-7	464,12	42-44	95-105	0,14 mg/l	227	-
N-EtFOSA	4151-50-2	527	88-90	110	<0,05 mg/l	7	1,16
N-MeFOSE	24448-09-7	557	75-95	-	0,82 mg/l	0,7	-

3.4 Únik do životního prostředí

Všechny perfluorované látky přítomné v životním prostředí jsou antropogenního původu. Z látek přírodního původu jsou známy pouze některé monofluorované organické sloučeniny (monofluoroctová kyselina), které jsou produkovány některými rostlinami a houbami.[5]

Perfluorované sloučeniny vstupují do životního prostředí během celého procesu jejich využívání. Do prostředí jsou uvolňovány při výrobě, přepravě, přidávání do konečného produktu, využívání produktu a zpracování odpadu.[5] Uvolňovány jsou rovněž při aplikacích popsanych v kapitole 3.2.2. Celkové množství těchto látek, které unikly do životního prostředí je dnes těžké přesně určit, ale je odhadováno na 3200-7300 tun v letech 1951-2004.[18] V dalším budou přiblíženy největší zdroje úniku těchto látek.

Výroba perfluorovaných látek zahrnuje přibližně 600 reakcí. Při každém kroku výroby vzniká odpad a i přesto, že jsou tyto výstupy recyklovány a čištěny, je výroba těchto látek největším zdrojem úniku do životního prostředí.[5] The United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) uvádí, že při výrobě největším producentem těchto látek na světě, americkou společností 3M, bylo uvolněno do roku 2000 přibližně 3000 tun látek s perfluorovaným řetězcem C₈. V roce 2002 ukončila společnost 3M výrobu perfluorovaných látek s řetězcem s osmi uhlíky, které se zdají z environmentálního hlediska nejrizikovější, a přešla na látky s uhlíkatým řetězcem se čtyřmi uhlíky. Tyto látky vykazují menší míru biokoncentrace. V jiných podnicích pokračuje výroba perfluorovaných sloučenin s řetězcí C₈. [45]

Při výrobě dochází k únikům vypouštěním kontaminovaného vzduchu, vody a ukládáním odpadu na skládkách. V jakém poměru jsou tyto výstupy můžeme usoudit z revize provedené v podniku u města Decatur (USA), jejichž výsledky jsou zhrnuty v tabulce III. [5]

Tabulka III: *Produkce perfluorovaných odpadů ve městě Decatur (USA) v roce 1998*

Typ odpadu	Odhadovaný ekvivalent PFOS v kg
emise do vzduchu	8600
odpady ke spálení	298 000
odpady ukládané na skládku	172 000
vypuštěné odpadními vodami	4 500
celkový odpad	483 000

K citelným únikům perfluorovaných látek dochází rovněž při jejich dalším zpracování na finální produkty. Příkladem může být textilní průmysl, kde se používají látky na bázi PFOS k povrchové úpravě tkanin a koberců. Výsledný polymer na povrchu látky obsahuje přibližně 1% látek na bázi PFOS. Při vypírání produktu se tyto látky uvolňují do odpadní vody. Odhaduje se, že při zpracování perfluorovaných látek na finální produkty unikne do životního prostředí 1,4% z celkového zpracovaného objemu. [6].

Při následném používání produktu ošetřeného perfluorovanými látkami dochází k jejich uvolňování. Bylo zjištěno, že z produktu se za dobu užívání může uvolnit až 95% přítomných nízkomolekulárních látek. Zejména se jedná o výrobky typu koberců, oblečení, upravené kůže, nábytku, látek apod. Přibližně 50% se uvolní při používání předmětu (chození po ošetřeném koberci, nošení oblečení, apod.) a 45% při čištění těchto materiálů. Předpokládá se, že 57,5% látek přejde do vody a 37,5% látek přejde do půdy. K uvolnění zbylého množství obsaženého ve výrobku dojde při jeho konečném zpracování jako odpadu, při uložení tohoto odpadu na skládce, nebo při jeho spálení. Celkové množství, které takto přejde do složek životního prostředí, se v Evropě odhaduje na 1,13 tun/rok, které přejde do vody a 665 kg/rok, které se kumulují v půdě. [6]

Při ošetření papíru tvoří tyto látky přibližně 1-1,5% z jeho hmotnosti. V Evropě je používáno přibližně 10 700-16 000 tun tohoto papíru ročně, což představuje přibližně 160 tun/rok perfluorovaných látek používaných při ošetření papíru. Jedná se především o fosfát esteru N-EtFOSEA a N-MeFOSEA. Látky jsou vyráběny a aplikovány s tím úmyslem, aby stále zůstaly vázány v papíru. Přestupový koeficient do vzduchu je roven nule a do vody má hodnotu 0,05. Proto se většina těchto látek uvolní z papíru po uložení na

skládkách odpadů nebo při spalování odpadů. Ročně se v Evropě tímto způsobem dostane do životního prostředí asi 8 tun perfluorovaných látek. [6]

Kontaminovat životní prostředí perfluoralkylovanými látkami můžeme také v důsledku aplikace nátěrových hmot tyto látky obsahující. Jedná se o zejména o nátěrové hmoty na bázi vodných emulzí obsahujících 0,1-1,0% perfluorovaných látek příbuzných PFOS. Emisní koeficient pocházející z těchto nátěrových hmot byl stanoven na hodnotu 0,005 pro perfluorované látky přestupující do vody a na hodnotu 0 pro perfluorované látky přestupující do vzduchu. V Evropě se ročně vyrobí přibližně 16 350 tun nátěrových hmot, ve kterých je obsaženo 90 tun perfluorovaných látek. Celkové emise z těchto aplikací jsou v Evropě odhadovány na 450 Kg/rok do odpadních vod. [6]

Dalším zdrojem kontaminace životního prostředí perfluorovanými látkami je galvanické pokovování (především chromování) předmětů. Do galvanických lázní jsou přidávány soli PFOS v koncentraci přibližně 10 ppm. Do prostředí se uvolňují výparem do atmosféry a oplachováním hotových výrobků se následně dostávají do odpadní vody. Oba dva prezentované způsoby představují velmi malou zátěž. Takto uvolněné množství se dá vyjádřit v desítkách gramů za rok u středně velkého podniku. Hlavním způsobem úniku perfluorovaných látek je při tomto technologickém procesu patrně čištění lázní a jejich výměna. Celkem se z galvanických lázní uvolní v Evropě 10 tun perfluorovaných látek za jeden rok.

Posledním způsobem kontaminace, kterým se budeme podrobněji zabývat, je použití hasicích pěn. Některé používané hasící pěny obsahují přibližně 1% solí PFOS. Ty se do prostředí dostávají při použití pěny, ať už při hašení požáru nebo při cvičení hasičů. Použitá pěna kontaminuje půdu, povrchovou vodu, případně vodu odpadní. Pěny obsahující PSOF se používají přibližně při hašení 0,5% požárů. Takto uvolněné množství tvoří v Evropě asi 514 kg ročně.

Tabulka IV: *Odhady úniku látek příbuzných PFOS v Evropě [6]*

způsob kontaminace	složka prostředí	množství v kg/rok
příbuzné PFOS		
galvanické pokovování	odpadní voda	10 000
hasící pěny	povrchové vody	286
	půda	286
perfluorovaný papír	odpadní voda	8 000
nátěrové hmoty	odpadní voda	450
zpracovatelské továrny	odpadní voda	33,4
výrobky	voda	1132
	půda	665
PFOS-polymerní		
zpracovatelské továrny	odpadní voda	3360
výrobky	voda	113 000
	půda	66 500

3.5 Osud perfluoroalkylovaných látek v životním prostředí

Perfluoroalkylované látky mají řadu specifických vlastností, jako je perzistence v prostředí, bioakumulace, díky které jsou tyto chemické sloučeniny zařazeny mezi perzistentní organické polutanty (POPs), vedle celé řady dalších halogenovaných kontaminantů. Přestože můžeme perfluorované látky detekovat i ve vzorcích z odlehlých oblastí, jako je například Arktida, environmentální vlastnosti a transportní mechanismy jednotlivých perfluoroalkylovaných látek nejsou doposud dostatečně prostudovány a popsány.[7] Největší pozornost byla doposud věnována PFOS, a proto se v literatuře vyskytuje nejvíce informací o PFOS a o látkách z něho odvozených.[6] Osud kontaminujících látek v prostředí je obecně závislý na chemických a fyzikálně-chemických vlastnostech dané látky a na environmentálních vlastnostech životního prostředí. Látky jsou postupně distribuovány do různých složek životního prostředí. Pro distribuci látek jsou důležité parametry jako rozpustnost ve vodě, těkavost, sorpční vlastnosti, rozdělovací koeficient oktanol-voda K_{ow} . [9]

Tabulka V: Vybrané vlastnosti perfluoroalkylovaných látek [9]

látko	rozpustnost ve vodě (g/l)	rovnovážný tlak páry (Pa)	Henryho konstanta (atm.m ³ /mol)
PFOS (K ⁺)	0,519	$3,31 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-9}$
PFBS	0,510	není dostupný	-
PFOA (H ⁺)	9,5	70	$4,6 \cdot 10^{-6}$
PFOA (NH ₄ ⁺)	>500	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$1,1 \cdot 10^{-11}$
N-EtFOSE	$1,51 \cdot 10^{-4}$	0,504	$1,9 \cdot 10^{-2}$
N-EtFOSEA	$8,9 \cdot 10^{-4}$	není dostupný	-
6:2 FTOH	$1,2-1,7 \cdot 10^{-2}$	není dostupný	$1 \cdot 10^{-2}$
8:2 FTOH	$1,4 \cdot 10^{-4}$	2,93	$9,6 \cdot 10^{-2}$

U ionogenních látek se rozpustnost a rovnovážný tlak páry značně liší u čisté látky a u její soli, což ovlivňuje distribuci těchto látek v ekosystémech. Perfluorované látky vykazují dobré adsorpční vlastnosti. Adsorbují se jak na sediment, tak na volné pevné částice přítomné ve vodním prostředí, dále na prachové částice obsažené ve vzduchu a na složky půdy. Pravděpodobným mechanismem působení je chemická adsorpce a hydrofobní interakce. Mezi prostředím a adsorbovanou složkou se ustavuje rovnováha.[9] Po vstupu kontaminantu do prostředí dochází k distribuci mezi složky prostředí. Model distribuce PFOS je v tabulce VI.

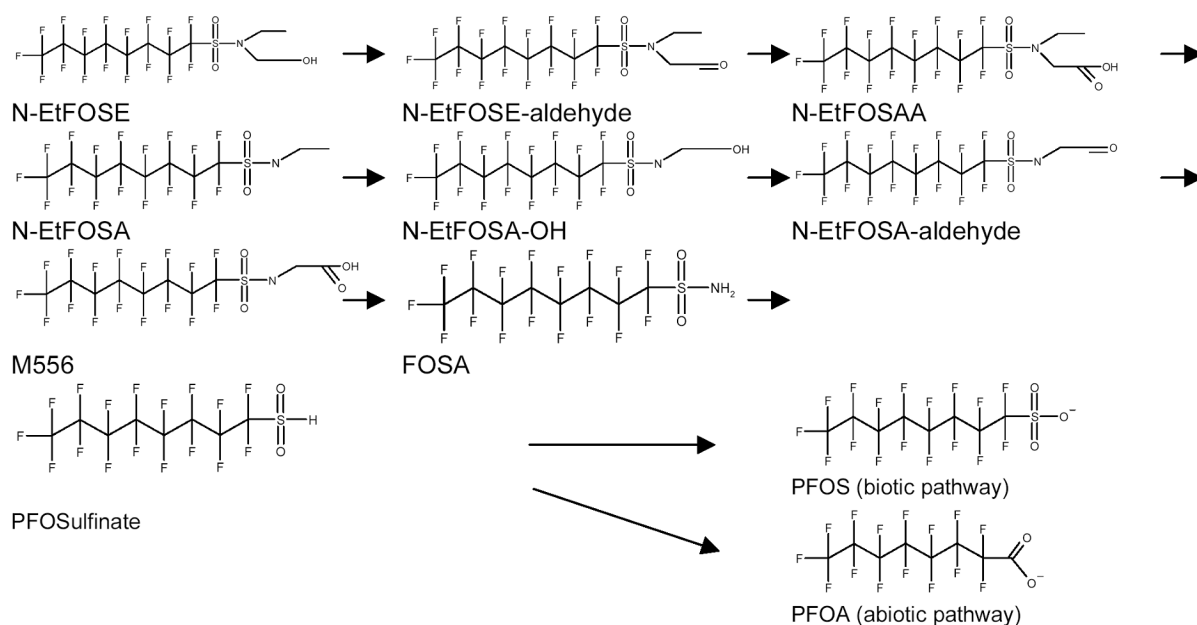
Tabulka VI: Model distribuce PFOS v prostředí [6]

složka	uvolnění do		
	vzduch	voda	zemědělská půda
voda	0,38 %	83,18 %	0,26 %
mořská voda	0,04 %	9,06 %	0,03 %
vzduch	0,01 %	0,01 %	0,01 %
půda (celková)	99,55 %	3,42 %	99,7 %
vodní sediment	0,02 %	4,2 %	0,01 %
mořský sediment	0,01 %	0,14 %	0,01 %

Na základě rozdělovacího koeficientu oktanol-voda obvykle usuzujeme na bioakumulaci dané látky a na její sorpci na organickou hmotu. To v případě perfluoralkylovaných látek nemůžeme použít jednak proto, že tyto látky jsou jak hydrofobní, tak oleofobní; také je známo, že perfluoralkylované látky nejsou v živé tkáni vázány pouze na tuky. Za druhé se jich část vyskytuje v disociované formě a v důsledku toho se také uplatňují elektrostatické interakce.[9] Kromě toho jsou hodnoty rozdělovacího koeficientu oktanol-voda u ionogenních perfluorovaných látek nedostupné.[6] Vazba C-F mezi uhlíkem a fluorem je velice silná a její síla rovněž závisí na celkové struktuře molekuly. Perfluorované řetězce jsou proto v prostředí dosti těžko odbouratelné. Jsou odolné vůči hydrolýze, fotolýze i biodegradaci. Ve složkách životního prostředí podléhají perfluoralkylované látky pouze transformačním reakcím, avšak produkty transformačních reakcí jsou dále neodbouratelné.[9] Mechanismy těchto reakcí nejsou zatím zcela objasněny. Předpokládá se však, že konečným produktem reakcí řady perfluoralkylovaných látek v prostředí je PFOS a PFOA. [6]

Tabulka VII: *Degradace vybraných látek v prostředí [9]*

látky	biodegradace a biotransformace	fotolýza	hydrolýza
PFOS (K^+)	0 %	0 %	$T_{1/2} > 42$ let
PFOA (NH_4^+)	0 %	0 %	$T_{1/2} > 92$ let
N-MeFOSE	-	-	$T_{1/2} = 6,3$ let
N-EtFOSE	PFOS a PFOA	0 %	$T_{1/2} = 7,3$ let
N-MeFOSEA	-	-	$T_{1/2} = 99$ dní
N-EtFOSEA	-	-	$T_{1/2} = 35$ dní
8:2 FTOH	PFOA	není předpokládána	-



Obrázek 4: *Biotransformační reakce N-EtFOSE [9]*

Mechanismy biotransformačních reakcí nejsou zatím zcela objasněny. Příkladem mohou být transformační reakce N-EtFOSE. Jeho pravděpodobné biotransformační reakce jsou znázorněny na obrázku 4.

3.5.1 Hydrosféra

Do vodního systému se perfluoralkylované látky dostávají s odpadními vodami z průmyslových podniků, kde se tyto látky vyrábí, nebo kde se s nimi pracuje. Dalšími zdroji mohou být také odpadní vody z větších měst. Na odtocích z městských čistíren odpadních vod se koncentrace pohybuje nejčastěji v rozmezí 10-200 ng/l.[7] Podle studie provedené v Dánsku byla maximální koncentrace zjištěná ve společné odpadní vodě z různých druhů průmyslu; tato hodnota byla 799 ng/l. V odpadní vodě z textilního závodu byla naměřená koncentrace perfluoralkylovaných látek 205 ng/l.[8] Účinnost odstranění v čistírnách odpadních vod je velmi rozdílná u jednotlivými typů perfluoralkylovaných látek a pohybuje se v rozmezí 0-90%. Další možnou kontaminací jsou splachy ze zemědělských půd, do kterých je aplikován kal z čistíren odpadních vod. Aplikací kalu mohou být kontaminovány povrchové i podzemní vody. Zjištěné koncentrace v kalu z velkých čistíren se pohybují do 150 ng/g sušiny.[7] Další možnost kontaminace představuje sekundární kontaminace pocházející z atmosférické depozice.

Po vstupu perfluorovaných látek do vodního prostředí se ustavuje rovnováha mezi látkami adsorbovanými na sediment a látkami volnými ve vodě. Tuto skutečnost vyjadřujeme distribučním koeficientem sediment-voda K_D . U perfluorovaných látek jsou hodnoty K_D těžko zjištělné, protože není znám přesný mechanismus sorpce těchto látek na sediment; dále již bylo popsáno, že sorpce jsou výrazně závislé na druhu sedimentu - sorpce se lineárně zvyšuje s obsahem organického uhlíku. Obecně lze říci, že adsorpce závisí na funkční skupině a síla adsorpce se zvyšuje s délkou perfluoralkylovaného řetězce.[7,10] Adsorpce na sediment se rovněž zvyšuje s klesající hodnotou pH a zvyšující se koncentrací iontů Ca^{2+} . Při sorpci se uplatňuje hydrofóbní interakce s organickým uhlíkem a elektrostatická interakce.[10] Bylo prokázáno, že nedochází k rozkladu těchto látek v sedimentu.[7]

Kontaminace podzemních vod bývá způsobena použitím hasících pěn. Koncentrace naměřené v těchto lokalitách jsou vysoké, rozpětí hodnot od 125 μ g/l do 7 mg/l bylo zjištěno ještě po sedmi letech. [4] Další údaj se týká koncentrace perfluorovaných karboxylátů; bylo zjištěno, že v podzemních vodách v blízkosti dvou leteckých základů v USA, kde byly použity hasící pěny, byly 7,09 mg/l a 0,54 mg/l.[11]

Koncentrace v povrchových vodách byly zkoumány v několika dalších studiích. V řece Pád a v jeho přítocích v severní Itálii byly naměřeny extrémní koncentrace sumy pěti hlavních perfluorovaných kontaminantů; tyto koncentrace dosahovaly hodnoty až 1298 ng/l. Největší podíl představoval PFOA, dále následoval PFOS.[12] V řece Pearl v Číně byly naměřeny koncentrace PFOS 0,9-99 ng/l, PFOA 0,85-13 ng/l a PFOSA 0,073-0,34 ng/l. V řece Yangtze, rovněž v Číně, byly naměřeny koncentrace PFOS 0,01-14 ng/l a PFOA 2-260 ng/l.[13] V ústí Labe do moře byla naměřena koncentrace PFCA 25,87 ng/l.[7] Pokud hodnotíme kontaminaci oceánů, v jejich vodách byla zjištěna přítomnost PFOS a PFOA. V severní části Atlantského oceánu byla zjištěná koncentrace PFOS 8,6-36 pg/l a PFOA 52-338 pg/l; v jižní části Atlantického oceánu, v Tichém oceánu a v Indickém oceánu byla naměřena suma PFOS a PFOA ve výši 5-11 pg/l.[14]

Mořskou vodou jsou tyto látky také pravděpodobně transportovány na velké vzdálenosti do oblastí, kde nebyly nikdy použity.[4]

3.5.2 Atmosféra

Perfluoralkylované látky se v atmosféře vyskytují, v závislosti na svých fyzikálně-chemických vlastnostech, a to buď volné ve vzduchu, anebo přisedlé na částicích; na částice mohou být buď adsorbované, nebo se zde vyskytují ve zkondenzovaném stavu. Henryho konstanty pro ionogenní a neutrální látky se liší o několik řádů. Ionogenní látky mají mnohem nižší tenzi par a vyskytují se proto v atmosféře přisedlé na částicích.[7] Neutrální látky jako FTOH, FOSAs, FOSEs jsou více přítomné také ve volném ovzduší.

Atmosférou rovněž dochází k transportu těchto látek na velké vzdálenosti. Přestože se v atmosféře vyskytují více neutrální perfluorované látky, jsou v odlehlých oblastech nalézány v mnohem větší míře také látky ionogenní. Je to způsobeno tím, že fluorotelomerní alkoholy, perfluorované sulfonamidy a sulfonamidoethanoly podléhají v atmosféře fotooxidačním reakcím. FTOH reagují s radikálem $\text{OH}\cdot$ za vzniku karboxylové kyseliny o dva hydrogenované uhlíky kratší. Znamená to, že z 8:2 FTOH vznikne PFOA. Délka života fluorotelomerních alkoholů v atmosféře je asi 20 dnů.[15] FOSAs a FOSEs podléhají v atmosféře poměrně složitým radikálovým reakcím, jejichž výsledkem jsou perfluorované karboxylové kyseliny; současně dochází i k částečné fragmentaci perfluorovaného řetězce. Délka života je asi 20-50 dnů.[4]

Koncentrace ve velkých městech jsou přibližně pro ΣFTOH volné ve vzduchu $10^1\text{-}10^2 \text{ pg/m}^3$; na částicích ve vzduchu se vyskytují buď v množství nacházejícím se pod detekčním limitem, nebo dosahují hodnoty 10^0 pg/m^3 ; $\Sigma\text{FOSA/Es}$ volné ve vzduchu i vázané na částicích se vyskytují v řádu 10^1 pg/m^3 , $\Sigma\text{sulfonátů}$ pro sorpci na částice byla 10^1 pg/m^3 a ΣPFCA pro sorpci na částice byla 10^2 pg/m^3 . [7]

3.5.3 Pedosféra

Zdroje kontaminace půdy perfluorovanými látkami jsou především mokrá a suchá atmosferická depozice, která má plošný charakter, a dále lokální kontaminace vzniklá použitím kontaminovaných čistírenských kalů přidávaných do zemědělské půdy a použitím hasicích pěn. Data o úrovni kontaminace a distribuci v půdě nejsou v současnosti z literatury dostupná.

3.5.4 Biosféra a člověk

K důležitým environmentálním vlastnostem PFASs patří jejich bioakumulace a biokoncentrace. Koncentrace těchto látek ve tkáních živočichů jsou vyšší, než koncentrace v prostředí, ve kterém žijí; rovněž bylo zjištěno, že koncentrace těchto látek se zvyšuje na jednotlivých trofických úrovních až o několik řádů. Schopnost bioakumulace a biokoncentrace je závislá na délce perfluorovaného řetězce a lze konstatovat, že s jeho vzrůstající délkou roste schopnost biokoncentrace a bioakumulace.[7] Biokoncentrace je pozorována u všech PFASs, kromě PFASs s řetězcem kratším než C_7 a PFOA s řetězcem kratším než C_8 . [35]

Tabulka VIII: *Bioakumulační faktory určené ze vzorků z Western Scheldt*[7]

organismus	PFOA	PFDA	PFUnA	PFOS
Okoun mořský	44	2300	5000	5200
Pulec ostnitý	49	2900	6400	3000
bezobratlí	410	210	17	170

Narozdíl od jiných halogenovaných kontaminantů, které mají lipofilní charakter a převážně se ukládají v tukových tkáních, se perfluorované látky ukládají především v játrech, ledvinách, dále jsou vázány na proteiny krevní plazmy a také se vyskytují ve svalovině.

Úroveň kontaminace jednotlivých druhů je závislá na geografických podmínkách. Největší koncentrace jsou nacházeny v průmyslových a průmyslem zasažených oblastech jako jsou Baltské moře, Středozemní moře, velká jezera v severní Americe a podél asijského pobřeží. Díky globální distribuci těchto látek jsou dnes PFASs detekovatelné i u živočišných druhů žijících ve značně odlehlých oblastech, jako jsou Aljaška nebo Antarktida. V Evropě jsou nacházeny prakticky v každém analyzovaném vzorku. Koncentrace v játrech ryb, ptáků a savců v Evropě se pohybují od jednotek ng/g po několik set ng/g. [33] Podle studie provedené v Grónsku byla koncentrace majoritního kontaminantu PFOS v játrech savců (v ng/g mokré hmotnosti) následující: lední medvěd 1325, tuleň 10-67, alkoun obecný (pták) 13. Ostatní látky byly ve výrazně nižších koncentracích, případně nebyly vůbec detekovány. [25] Naměřené koncentrace v játrech a krvi zpěvných ptáků v okolí fluorochemické továrny v Antverpách se pohybovaly v játrech v rozmezí 629-11358 ng/g (mokré hmotnosti) a v krvi v rozmezí 66-1625 ng/ml. [34] Stejně jako u jiných živočišných druhů, tak také u člověka jsou nacházeny měřitelné koncentrace Prase, tj. hodnoty nad detekčním limitem. Způsob příjmu není dosud zcela objasněn, ale předpokládá se, že pravděpodobnou cestou kontaminace je orální příjem (kontaminovaná potrava, voda) a inhalace. Koncentrace v lidských vzorcích se značně liší podle oblastí, ve které člověk žije. Největší koncentrace byly nalezeny u pracovníků v továrnách vyrábějící nebo zpracovávající perfluorované látky a to až v řádech mg/l krve. [33]

Tabulka IX: *Koncentrace PFOS a PFOA v lidské krvi* [33]

oblast	PFOS (µg/l)	PFOA (µg/l)
USA	4,3-1656	1,9-52,3
Japonsko	3,5-28,1	2,5-12,4
Německo	5,5-104	1,4-57,7
Itálie	1-10,3	-
Švédsko	2-37	0,5-12,4
Polsko	16-116	9,7-140
Indie	1-3,1	3-3,5

3.6 Toxikologické vlastnosti

Studie zabývající se toxikologickými a ekotoxikologickými vlastnostmi perfluorovaných sloučenin se zaměřují na dvě látky - PFOS a PFOA, které jsou v životním prostředí nejvíce zastoupeny a představují největší riziko. Koncentrace těchto látek nalezené v lidské krvi jsou uvedeny v tabulce IX. Poločas odbourání z krevního séra je odhadnut na průměrně 5,4 (3,9-6,9) roku pro PFOS; 3,8 (3,1-4,4) roku pro PFOA a 8,5 (6,4-10,6) pro PFHxS. U jiných savců byla pozorována rychlejší eliminace z těla. Například pro opice je to (132±13) dní pro PFOS u samců a (110±26) dní u samic, pro látku PFHS je to pro samce (141±52) dní a pro samice (87±47) dní. Odstraňování PFOA z krevního séra je ovlivněno hormony, zejména estradiolem

a testosteronem, a průběh je rychlejší u samic než u samců krys.[41] Vylučování probíhá především močí a exkrementy. U krys bylo po uplynutí 89 dnů od podání PFOS nitrožilně zjištěno, že 30% bylo vyloučeno močí a 12% výkaly.[36]

Akutní toxicita PFOS a PFOA není vysoká a nepředstavuje u těchto látek významné riziko; u krys se LD₅₀ pohybuje v stovkách mg/kg.[33] Toxikologicky významné jsou kumulativní vlastnosti PFAS a s tím spojená subchronická a chronická toxicita. Nižší dávky mají hepatotoxický, neurotoxický a imunotoxický efekt. V živočišném těle jsou PFCs vázány na proteiny krevní plazmy a ukládají se v játrech a ledvinách. Při sub-chronickém testu na opicích byl při podávání dávky 20 mg/kg/den PFOA po dobu šesti měsíců pozorován úbytek na hmotnosti a nechutenství. Došlo rovněž k malému úbytku triglyceridů. Byl zaznamenán pokles aktivity některých hormonů, hlavně estradiolu. Poklesla také aktivita některých enzymů a došlo k nárůstu jaterní hmotnosti. Změny na jiných orgánech nebyly pozorovány.[37] Obdobný test sub-chronické toxicity PFOS byl opět proveden na opicích. Byla jim podávána dávka 0,75 mg/kg/den. Test byl ukončen po 179 dnech (kumulativní dávka 134 mg/kg), kdy byly opice již ve značně zbídačeném stavu. U opic došlo k úbytku hmotnosti, v krvi došlo k nárůstu množství žlučových kyselin, draslíku, dusíkatých látek a některých enzymů a došlo také k úbytku hemoglobinu. Pravděpodobnou příčinou skomírání opic byla hyperkalemie. Došlo ke zvětšení hmotnosti jater, ale u ostatních orgánů nebyly hmotnostní změny pozorovány. V játrech došlo k ukládání tuku, bylo také prokázáno zvýšené množství glykogenu. K rozdělení PFOS mezi játra a krevním sérem došlo v poměru od 0,9:1 do 2,7:1. Kleslo i celkové množství cholesterolu a to významněji u samců než u samic. Rovněž došlo k narušení hormonální rovnováhy, hladina některých hormonů se snížila a u jiných došlo naopak k nárůstu.[40]

PFOS ani PFOA nepodléhají žádným degradačním reakcím. FTOH jsou v játrech metabolizovány na PFOA.[43] PFOA je následně v játrech rozpoznána jako žlučová kyselina, dochází k rozdělení mezi krev, játra a žluč. Ze střeva je zpětně resorbována do jater, což omezuje vylučování. V játrech ovlivňuje metabolismus glycerolipidů.[38]

Perfluorované látky přestupují mozkovou i placentární bariéru a dostávají se z těla matky do plodu. Zjištěné množství je v játrech plodu proporcionálně přibližně poloviční než u matky.[39] PFOS a PFOA ovlivňují metabolismus cholesterolu; u krys byl pozorován jeho úbytek v krvi o 25% při dávce 100 mg/kg, podané injekčně. U N-EtFOSE nebyl tento efekt pozorován. U krys došlo k snížení hmotnosti po podání PFOA a PFOS, hmotnost jater však zůstala stejná. Při podání N-EtFOSE nebyly hmotnostní změny krys ani jater pozorovány. PFOS a PFOA způsobují rovněž peroxisomální proliferaci v játrech. Aktivita enzymu lauroyl CoA oxidáza se zvýšila téměř na dvojnásobek. PFOA snižuje aktivitu cytochromoxidázy v mitochondriích, PFOS ani N-EtFOSE takový účinek nemají. U krys došlo rovněž po podání PFOA ke zvýšené produkci mtDNA.[42]

3.7 Ekotoxikologické vlastnosti

Nejvíce ekotoxikologických dat je opět dostupných o PFOS a PFOA, dále pro 8:2 FTOH a některé perfluoralkylované sulfonamidy. Akutní toxicita těchto látek pro vodní organizmy je velmi nízká. PFOS je pro řasy a vodní rostliny prakticky netoxický, pro bezobratlé je akutně slabě toxický. Dávka LC₅₀ pro ryby je 7,8 mg/l. Obdobně je na tom z ekotoxikologického hlediska i PFOA; PFOA je akutně středně toxická pro řasy a toxicita pro ryby je nízká. Pokud se týká chronické toxicity, jsou ryby více senzitivní než bezobratlí a řasy; tento poznatek byl

odvozen alespoň z dostupných dat podle PFOS. Dostupná ekotoxikologická data jsou shrnuta v tabulce X[9]

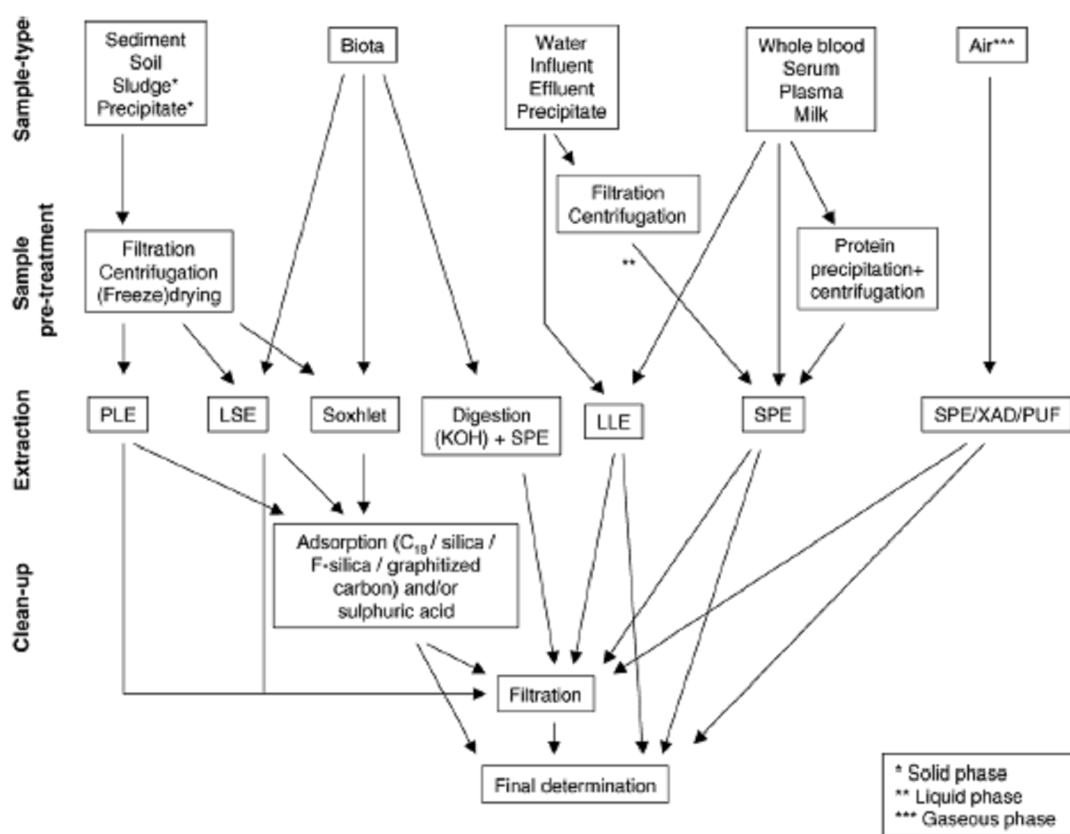
Tabulka X: *Efektivní koncentrace a NOEC pro vodní organizmy*

látká	typ toxicity	trofická úroveň	organismus	výsledek (mg/l)
PFOS	akutní	řasy	Selenastrum capricornutum	72h EC50 = 120
		bezobratlí	Daphnia magna	48h EC50 = 58
		ryby	Oncorhynchus mykiss	96h EC50 = 7.8
	chronická	bezobratlí	Daphnia magna	28d NOEC = 7
		ryby	Pimephales promelas	42d NOEC = 0.30
PFOA	akutní	bakterie	Photobacterium phosphoreum	30 min EC50 = 722
		řasy	Selenastrum capricornutum	96h EC50 > 1000
		ryby	Pimephales promelas	96h LC50 = 300
	chronická	řasy	Selenastrum capricornutum	14d EC50 = 43
		ryby	Pimephales promelas	30d NOEC > 100
8:2 FTOH	akutní	řasy	Scenedesmus subspicatus	72h NOEC = 0.20
		bezobratlí	daphnia	48h NOEC = 0.16
		ryby	Danio rerio	96h NOEC = 0.18
N-EtFOSA	akutní	bezobratlí	daphnia	48h EL50 = 14.5
		ryby	Pimephales promelas	96h LL50 = 206

3.8 Analytická chemie perfluorovaných sloučenin v různých typech matric

Zájem o sledování fluorovaných sloučenin začal v šedesátých letech minulého století, kdy se objevily první zprávy o přítomnosti organofluorových sloučenin v krevním séru člověka. Nejprve se tyto sloučeniny stanovovaly nespecificky jako celkový obsah fluoru. Používala se převážně destrukční metoda, při které se vzorek spálil, převedl na fluoridy a ty se stanovily. Objevilo se také stanovení pomocí ^{19}F NMR, kterým se nespecificky stanovila přítomnost skupin CF_2 a CF_3 s detekčním limitem 10 $\mu\text{g/l}$. Chromatografické postupy se začínaly používat až v 80. letech a používají se i dnes. Poté, co se geometrickou řadou začala zvyšovat produkce perfluorovaných látek a byly prokázány jejich negativní environmentální vlastnosti, jakými jsou zejména vysoká perzistence v prostředí a vysoká míra bioakumulace, bylo zapotřebí vyvinout metody sledování těchto polutantů v různých typech matric. K velkému rozvoji analytických postupů došlo za poslední desetiletí. Dnes už jsou tyto postupy vesměs vypracovány a byly již publikovány téměř pro všechny typy abiotických a biotických matric pocházejících ze životního prostředí.[1]

Tak, jako jsou u této skupiny chemických sloučenin do jisté míry unikátní jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, je také analytická chemie, používaná pro jejich identifikaci a kvantifikaci, v mnohých ohledech specifická. Používají se moderní analytické postupy pro jejich izolaci z matrice, založené převážně na extrakci, dále následuje přečištění extraktu pomocí kolonové chromatografie a finální analýza pro kterou jsou využívány plynová nebo kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí. Při celém analytickém postupu je třeba dávat značný pozor na možnou kontaminaci vzorku z polyfluorovaných materiálů (teflon), které jsou součástí mnoha instrumentálního zařízení. Při analýze PFASs nemohou být tyto materiály použity. Dalším možným zdrojem kontaminace je PP a PE, který může obsahovat zbytkové koncentrace PFASs. Tyto materiály je možné použít po řádném předčištění (semi)polárními rozpouštědly.[18] Při kvantifikaci polutantů se pracuje metodou kalibrační křivky s využitím vnějšího standardu, nebo metodou standardního přídávku. Při potřebě vnitřního standardu se používají izotopicky značené sloučeniny s atomy ^{13}C a ^2H . [1]



Obrázek 5: Analytické postupy stanovení PFASs v různých typech matric[18]

3.8.1 Analýza vody

3.8.1.1 Vzorkování, skladování a úprava vzorku

Vzorkování vody prováděné pro následnou analýzu perfluorovaných látek má několik úskalí a zdaleka to není tak jednoduchá problematika, jak by se mohlo na první pohled zdát. Při vzorkování je nutné počítat s povrchově aktivním charakterem perfluoralkylovaných látek, a to jak ionogenních, tak také neionogenních. Koncentrace těchto látek přítomných v několika centimetrové vrstvě vody na fázovém rozhraní, tj. na rozhraní voda-vzduch je značně vyšší,

než v nižších vrstvách vody. Tento fakt nám dopředu navozuje otázku, jakým způsobem je nezbytné vzorky odebírat. Díky této prezentované vlastnosti se koncentrace zjištěné ve vodě a odebrané z jedné lokality mohou od sebe značně lišit. Odběr se provádí do vzorkovacích lahví. Vzorkovací lahve nesmí obsahovat fluoropolymerní složku, která by mohla kontaminovat vzorek. Při výběru lahve musíme také zvážit a částečně i počítat s možnou adsorpcí a absorpcí analytu na stěny nádoby.[1] Sloučeniny s delším uhlíkatým řetězcem ($>C_{10}$) se sorbují více. Sorbují se rovněž PFOSA a N-EtFOSA a PFOA a PFOS v kyselém prostředí. Nejčastěji se používají lahve z PP, PE a skla, řádně vymyté (semi)polárními rozpouštědly jakými jsou methanol, aceton, MTBE, případně deionizovaná voda. Bylo však také prokázáno, že PP lahve mohou být kontaminovány PFOA a předčištění je velmi důležité při sledování koncentrací nižších než 10 ng/l.[18] Skleněné lahve se vypalují v peci při teplotě 450°C.[12] Lahve je důležité před odbíráním vzorku několikrát propláchnout odbíranou vodou.[17] U neionogenních látek, které jsou více těkavé, je možný únik analytů také těkáním, a proto se lahve plní po okraj a je nutné je dobře utěsnit. Vzorky mohou být konzervovány, ale je dobré vyhnout se formaldehydu, který následně snižuje analytický signál.[1] K zamezení biodegradace se vzorky upravují na pH 2-3 přidáním HCl nebo kyseliny mravenčí.[16] Snížení pH může mít za následek zvýšení těkavosti a sorpčních vlastností u anionogenních látek v důsledku jejich asociace s protonem. Přesto se však úprava pH před vlastní izolací analytu doporučuje.[18] Vzorky se obvykle skladují při teplotě do 4°C, v lepším případě jsou do doby analýzy zamraženy.[16] Pokud je nutné vodu filtrovat, používají se polypropylenové filtry, protože sorpce na ně je menší než na jiné materiály.[1] Možné je použít také skleněné filtry nebo centrifugami, a to jako rovnocenný krok pro oddělení kapalné a tuhé fáze. [18]

3.8.1.2 *Extrakce analytů z vody*

V reálných vzorcích vody se koncentrace perfluorovaných látek pohybují v řádech ng/l-pg/l a pro další analýzu je nutné jejich zakonzentrování. Proto se pro extrakci těchto látek nejvíce používá extrakce kapalina-kapalina (LLE), nebo extrakce na tuhou fázi (SPE). Pro extrakci ionogenních látek (PFCAs, PFSAAs) se používají středně polární media (Oasis Wax SPE, methanol, acetonitril), zejména pro krátké řetězce (C_4 - C_6). Čím je uhlíkatý řetězec delší, tím méně se polární media používají. Pro dlouhé uhlíkaté řetězce a neionogenní látky se používají nepolární media (SPE- C_{18} , Oasis HBL, MTBE, hexan). Existuje také možnost použít různé směsi.[18]

Pro metodu SPE byla publikována řada různých modifikací preanalytických postupů, zahrnujících různé druhy kolon, především čistě hydrofobní kolony (C_{18}), směsné hydrofobní/polární kolony a slabé aniontoměničové kolony (WAX). Důležitý je výběr kolony podle druhu látek, které chceme extrahovat. Výťažnost se pro většinu analytů pohybuje v rozmezí 70-100%. [18]

Tanyasu a kol. [19] používá kolony Oasis[®] HBL a Oasis[®] WAX, a to pro extrakci fluorotelomerních alkoholů, karboxylových kyselin a perfluorovaných kyselin. Kolona HBL má výtěžnost větší jak 80% pro všechny sledované analyty, kromě karboxylových kyselin s krátkým řetězcem - PFHxA, PFPeA, PFBA, u kterých byla výtěžnost nižší než 30%. Separace neutrálních perfluorovaných složek a alkoholů od karboxylových kyselin není na koloně HBL dosažena. Pro zlepšení těchto nedostatků je možné použít kolony se slabým aniontoměničem WAX. Na těchto kolonách se dosahuje výtěžnosti 85-107% pro všechny

analyty, včetně těch s krátkým řetězcem, kromě 10:1 FTOH a 7:1 FTOH, u nichž se výtěžnost pohybuje kolem 55%. Na kolonách WAX rovněž můžeme oddělit neionogenní látky jako FTOH, PFOSA, N-EtPFOSA od látek ionogenních. Neionogenní analyty se eluují methanolem jako první, ionogenní analyty jsou eluovány v další frakci roztokem 0,1% NH₄OH/methanol.[19]

Pro extrakci PFOS a příbuzných látek je možné použít rovněž hydrofobní kolony C₁₈-SPE. Jelikož interakce probíhá mezi perfluorovaným a uhlíkatým řetězcem, jsou vhodnější pro látky s delším perfluorovaným řetězcem, u kterých je dosahováno výtěžnosti kolem 80%. Jako eluční činidlo se používá v tomto případě čistý methanol. Pro látky s krátkým perfluorovaným řetězcem byla publikována výtěžnost pouze 30%.[18]

Extrakcí kapalina-kapalina (LLE) lze rovněž dosáhnout dobrých výsledků. Pro extrakci perfluorovaných sloučenin s řetězcem C₆-C₁₂ byla ověřována rozpouštědla n-hexan, MTBE a trichlormethan. Použitím n-hexanu a trichlormethanu se nedosahuje dobré výtěžnosti pro analyty PFOS, PFOSA. Bylo zjištěno, že nejlepším extrakčním činidlem z uvedených tří je MTBE. Pro zlepšení výtěžnosti extrakce je vhodné použít přídavek NaCl v koncentraci 50g/l a okyselení roztoku na pH = 4 pomocí kyseliny sírové. Výtěžnost pro látky s řetězcem C₄-C₇ se pohybuje v rozmezí 40-70%, pro látky s řetězcem C₈-C₁₂ bylo dosaženo vyšších hodnot, a to 70-100%.[18]

Extrakce anionogenních látek může být rovněž provedena jako ion-párová extrakce. Anionogenní perfluorované látky tvoří dobře extrahovatelné páry s tetra-butyl- nebo tetrapropylamoniem. Extrakci lze podpořit zvýšením pH, na rozdíl od extrakce samotných látek, kdy je pH zapotřebí snížit k zamezení disociace.[1]

Kromě uvedených metod je možné použít i některé méně běžné techniky, kterými jsou například derivatizace nebo extrakce z velkého objemu. Patří mezi méně využívané techniky a proto jim zde nebude věnována větší pozornost.[20]

3.8.1.3 Přečištění extraktu z vodných vzorků

Přečištění extraktu u vodných vzorků obvykle není zapotřebí, tento krok je vlastně zahrnut již v metodě SPE, a obvykle je potom možné přejít ihned k finální analýze. Pokud je tento krok nutný, může být k přečištění použita kolonová chromatografie na sloupci florisilu, na kterém lze perfluorované látky selektivně izolovat. Po nanesení extraktu se nečistoty eluují roztokem 20% methanolu v MTBE. Následně jsou potom perfluorované látky eluovány tetrahydrofuranem a methanolem. Výtěžnost celého extrakčního procesu je 98%.[18]

3.8.2 Analýza pevných abiotických matric

3.8.2.1 Vzorkování, skladování a úprava vzorku

Při celém procesu je, stejně jako při analýze vody, nutné vyhnout se materiálům, které by mohly vzorek kontaminovat. Jsou to zejména fluoropolymery, nepředčištěný PP a PE. V sedimentech se projevuje vertikální nehomogenní distribuce, daná povrchově aktivním charakterem látek. Ve vrchní vrstvě tlusté několik centimetrů se nacházejí vyšší koncentrace těchto látek. Tyto vrstvy však mohou být překryty novými vrstvami a vertikální distribuce v sedimentu může odrážet časovou expozici dané lokality. Při odběru vzorků sedimentu se vzhledem k heterogenní distribuci perfluorovaných látek odebírají vzorky z více vzdálených míst a pro analýzu se používá alikvotní podíl ze směsného vzorku.[1] Vzorkování jiných matric, jako je půda nebo kal, probíhá podle obvyklých postupů pro tyto matrice. V matricích,

především v kalu z čistíren odpadních vod (ČOV), může docházet k biodegradaci. Odběr se provádí do PP nádob a vzorky se uchovávají v chladnu. K zabránění biodegradace a dalších změn se vzorky zamrazí na teplotu -20°C . [18] V případě nutnosti se vzorky prosívají přes síta pro odstranění větších částí. Sedimenty a kaly mohou být před analýzou rozemlety a zhomogenizovány. Vzorky se analyzují buď "mokrě", nebo se suší při laboratorní teplotě, případně v sušárně při teplotě 105°C . [21] Možné je také sublimační sušení zmrzlého vzorku používané pro omezení ztrát těkavých látek. [23]

3.8.2.2 *Extrakce z pevných abiotických matric*

Koncentrace perfluorovaných látek v sedimentech se pohybují přibližně od 10 pg/g do stovek ng/g. Koncentrace v kalech z ČOV jsou větší, pohybují se přibližně v rozmezí 10 ng/g až 10 µg/g. Hodnoty kontaminace půdy nejsou k dispozici. K extrakci analytů z těchto specifikovaných matric se nejčastěji používají dnes již standardní techniky, jako je zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE, PLE), extrakce teplou párou, sonikace, Soxhletova extrakce, extrakce kapalinou (LSE). Pro výběr polaritý mobilních fází platí stejná pravidla, jako pro extrakci z vody uvedená v kapitole 3.8.1.2.

Extrakce kapalinou LSE je dosti častou metodou. Její velkou nevýhodou je to, že je poměrně pracná a nedá se dobře automatizovat. Powley a kol. [22] popsali využití LSE extrakci pro $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ PFCAs, a to pro pevné matrice bez matrix efektu. Postupuje se tak, že k 5g vzorku se přidají 2 ml roztoku 200mM NaOH ve vodě; po 30-ti minutách třepání se přidá 20 ml MeOH a dále se třepe 30 minut. Poté je extrakt zneutralizován přidávkem HCl a oddělen centrifugací. Metoda je selektivní (1 ng/g) a výtěžnost je velmi dobrá, pro všechny délky řetězce se pohybuje v rozmezí 75 - 120%. Různými ověřovacími testy bylo prokázáno, že nevykazuje matrix-efekt. [22] Následně byla tato metoda s velmi dobrými výsledky použita i pro jiné perfluorované kontaminanty. [18]

Sonikace je jedna z dalších nenáročných a přitom účinných metod extrakce. Na vzorek s rozpouštědlem se působí ultrazvukem. Pro extrakci ionogenních i neionogenních látek ze sedimentů a kalů je možné použít následující postup sonifikace. K 1g suchého a zhomogenizovaného vzorku se přidá 10 ml 1% kyseliny octové. Následuje sonikace při zvýšené teplotě – 60°C , prováděná po dobu 15 minut. Po centrifugaci a dekantaci kyselého roztoku se přidá 2,5 ml extrakční směsi MeOH a 1% roztok kyseliny octové ve vodě Milli-Q v poměru 9:1(v/v). Znovu se opakuje sonikace prováděná při 60°C po dobu 15 minut. Celý postup se opakuje 2-3x. Po třech opakováních se získá více jak 95% všech extrahovatelných perfluorovaných látek. Výtěžnost pro suchý sediment byla v rozmezí 73-98%, 56-93% bylo stanoveno pro mokrý sediment a 37-98% pro primární kal. Následným přečištěním extraktu pomocí SPE a použitím LC-MS/MS analýzy lze dosáhnout vysoké citlivosti a selektivity 0,01-0,25 ng/g sušiny. [21] Tato metoda byla s malou změnou zkoušena také pro extrakci 8:2 FTOH. Postup byl stejný, pouze extrakční směs obsahovala 10-24% acetonu. Za těchto podmínek byla extrakční účinnost vyšší než 95%. [18]

Zrychlená extrakce rozpouštědlem (PLE) se používá pro extrakci celé řady kontaminantů. Její přednosti spočívají především v krátkém extrakčním čase, možnosti automatizace a získání čistého extraktu. Použití této metody pro extrakci perfluorovaných látek má však jedno úskalí. Přístroje pro PLE obsahují často řadu teflonových součástí, které mohou

kontaminovat vzorek. Pro extrakci perfluorovaných látek je třeba tyto součásti nahradit součástkami nerezovými. Metoda PLE byla optimalizována pro extrakci PFCA s z mořských sedimentů. Nejlepším extrakčním činidlem byla směs rozpouštědel aceton-methanol, smíchaných v poměru 1:3 při teplotě 100°C. Účinnost extrakce vzrůstá s délkou řetězce C₇-C₁₀; výtěžnost extrakce se pohybovala v rozmezí od 70% do 100%. Tato směs rozpouštědel není vhodná pro extrakci PFCA s krátkým řetězcem.[18]

Shröder vyšetřoval účinnost PLE, Soxhletovy extrakce a extrakce horkou párou pro extrakci anionogenních a neionogenních perfluorovaných látek izolovaných z kalu. Zkoušena byla rozpouštědla dimethylformamid, ethylacetát, methanol, 1,4-dioxan, pyridin, *tert*-butyl methyl ether a tetrahydrofuran. Teplota byla pro všechny extrakce stejná, a to 150°C. Nejvhodnější pro extrakci byla směs EtOAc-DMF-MeOH-H₃PO₄, při které bylo pro neionogenní látky dosaženo výtěžnosti extrakce 105%, pro anionogenní 119%.[23]

Soxheltova extrakce je dnes spíše referenční metodou používanou pro srovnání s jinými extrakčními postupy. Dosahuje sice velmi dobré účinnosti, ale doba extrakce je v mnohých případech neúnosně dlouhá. Pro extrakci PFASs použil tuto metodu Shröder. Zkoušel PFASs extrahovat ze sedimentu rozpouštědly EtOAc, MeOH a MeOH-HCl (99:1). Prokázal však velmi malou účinnost extrakce a ani po 12-ti hodinách extrakce nebyly výtěžnosti vyšší než 50%. Shröder použil i extrakci horkou párou, a to se stejnými rozpouštědly. Výtěžnost extrakcí byla rovněž nízká, nejlepšího výsledku bylo dosaženo s použitím extrakčního činidla tvořeného směsí MeOH-HCl (99:1), s účinností 45% pro neionogenní látky a 52% pro látky ionogenní. Tyto metody extrakce však nelze doporučit pro PFASs.[23]

3.8.2.3 *Přečištění extraktu z pevných abiotických matric*

Metody pro extrakci nejsou selektivní a specifické, kromě extrakce námi požadovaných analytů dochází ke koextrakci řady dalších látek. Přečištění extraktu z pevných matric je důležitější, než u extrakce vody. Koextrahované látky je třeba odstranit, protože při konečné instrumentální analýze mohou rušit, dále způsobovat koeluce, kontaminovat inlet nebo kolonu. Perfluorované látky jsou natolik stabilní, že pro přečištění extraktu můžeme použít směsi se silnými oxidačními účinky. Přídavkem silného oxidačního činidla se odstraní přítomné organické látky, které nejsou odolné vůči oxidačním účinkům. Extrakt se ve vakuové odparce odpaří do sucha a odparek se rozpustí v 5 ml MeOH. K roztoku se přidá 4 ml směsi H₂O₂ a H₂SO₄ v poměru 1:1(v/v), nebo 4 ml HCl a HNO₃ v poměru 3:1(v/v). Oxidace probíhá po dobu 30 minut při teplotě 50°C. Po oxidaci se upraví pH na hodnotu 6 přidáním NaOH. Analyty se zakoncentrují na SPE-C₁₈ koloně. Po promytí kolony vodou se eluují methanolem. Výtěžnost včetně PLE činila 79% pro neionogenní látky a 82% pro látky ionogenní při oxidaci pomocí H₂O₂ a H₂SO₄, respektive 70% a 71% při oxidaci pomocí HCl a HNO₃. [23]

Dalším z používaných postupů je zakoncentrování na SPE-C₁₈ koloně. Po zachycení analytů na koloně se promyje Milli-Q vodou a analyty jsou eluovány 4 ml methanolu.[18]

K přečištění můžeme rovněž použít aktivní uhlí, jelikož PFASs se na něj nesorbují. Na jeden mililitr extraktu se přidá 25 mg aktivního uhlí a 5 µl ledové kyseliny octové. Směs se míchá a aktivní uhlí s nasorbovanými nečistotami se oddělí centrifugací. Tímto postupem odstraníme látky, které se adsorbují na aktivní uhlí.[22]

3.8.3 Analýza biotických matric

3.8.3.1 Vzorkování, skladování a úprava vzorku

Koncentrace PFASs v biotických matricích se značně liší podle druhu vzorku a lokality. Koncentrační rozpětí bývá v rozsahu několik řádů. Pro zacházení s biotickými vzorky platí stejné zásady, jako pro vzorky vody a pevných abiotických matric. Pro uchovávání vzorků se nejčastěji používá PP nebo sklo. Nezbytné je vyhnout se materiálům kontaminujícím vzorek. K adsorpci na stěny dochází v menší míře než u vody, protože kontaminanty jsou v biotické matici více vázány. Vzorky se musí po odběru co nejdříve zmrazit v mrazícím boxu (teplota -20°C) a v něm uchovávat až do doby analýzy. U krevních vzorků nebyl pozorován žádný úbytek kontaminantů ani po čtyřech měsících, což se ověřovalo tak, že vzorek byl každý měsíc rozmrazen a znovu zamrazen. Před samotnou analýzou se vzorek homogenizuje většinou mechanickými homogenizátory, nebo s použitím ultrazvuku. Při analýze krve, pokud chceme oddělit krevní buňky od krevní plasmy, je nutné je vysrážet pomocí trichloroctové kyseliny nebo kyseliny mravenčí; případně lze použít také acetonitril. Obě fáze oddělíme centrifugací.[18]

3.8.3.2 Extrakce z biotických matric

Pro extrakci kapalných vzorků jako krev, krevní plazma a mléko, se používají metody extrakce kapalina-kapalina (LLE) a extrakce na tuhou fázi (SPE), obdobně jako při extrakci stejných analytů z vody. Tyto metody lze rovněž použít i pro extrakci zhomogenizovaných tkání po přidavku vody k extraktu. Pro extrakci pevných matric se používají techniky extrakce kapalinou (LSE), Soxhletova extrakce a vyluhování s KOH + SPE. Extrakce se provádí buď přímo v kyselém prostředí, nebo jako ion-párová extrakce s tetrabutylamoniem, případně tetrapropylamoniem.[18]

Extrakce kapalina-kapalina (LLE)

Pro extrakci se zvolí vhodné rozpouštědlo podle typu látek, které chceme extrahovat. Pro látky neionogenní jsou to nepolární rozpouštědla, jako například MTBE nebo hexan, pro ionogenní látky jsou vhodnější polárnější rozpouštědla, případně jejich směsi. Čím je delší perfluorovaný řetězec v molekule, tím je pro extrakci vhodnější rozpouštědlo s nižší polaritou. Extrakce anionogenních látek se provádějí v kyselém prostředí. Při vhodně zvoleném rozpouštědle a optimálních extrakčních podmínkách lze dosáhnout výtěžnosti nad 80%. [1]

Dost často používanou metodou při extrakci perfluorovaných sloučenin z biotických matric je ion-párová extrakce. Při extrakci ionového páru se ke vzorku přidává hydrogensíran tetrabutylamonia jako ion-párové činidlo. Extrakce probíhá v alkalických podmínkách pufru uhličitán sodný/hydrogenuhlíčan sodný. Jako extrakční činidlo se používá MTBE. Po extrakci se vrstvy rozdělí centrifugací.[24] Pro dosažení maximální výtěžnosti je nutné extrakci 3x opakovat.[18] MTBE vrstva se oddělí a vysuší do sucha v proudu dusíku nebo ve vakuové odparce a odparek se rozpustí v čistém rozpouštědle, vhodném pro další prováděné kroky komplexní analýzy. [24] Nedostatkem této metody je koextrakce lipidů a dalších koeluujících látek z matrice, které mohou rušit při následující chromatografické analýze. Na základě těchto poznatků lze usuzovat na to, že získaný extrakt je zapotřebí dále přecistit. Výtěžnost se po vyčištění pohybuje v rozmezí 50-200%. [18] Vysoká hodnota může být způsobena pravděpodobně vznikem dalších, dosud neidentifikovaných látek přítomných v extraktu.

Extrakce na tuhou fázi (SPE)

Při extrakci na tuhou fázi je důležitý výběr SPE kolony. Existuje možnost používat hydrofobní kolony SPE-C₁₈, směsné hydrofobní/polární kolony, středně polární (fenyl) kolony a slabé aniontoměniče (WAX). Každý z typů kolon je vhodný pro extrakci jiných látek. Pro neionogenní látky a látky s dlouhým uhlíkatým řetězcem jsou to nepolární kolony, pro látky ionogenní a s krátkým řetězcem se doporučuje použít kolony, jejichž polarita se zvyšuje. Extrakce probíhá v kyselém prostředí (kyselina mravenčí). Nepolární kolony se promývají vodou a kolony s aniontoměničem 40% vodným roztokem methanolu. Jako eluční činidlo se převážně používá methanol, v případě hydrofobních kolon a pro kolony se slabým aniontoměničem je vhodným elučním činidlem 2% NH₄OH v methanolu. [25,18]

Zajímavým způsobem extrakce je vyluhování v KOH, které je spojené se SPE. Ke vzorku se přidá KOH o koncentraci 0,05 mol/l v methanolu a třepe se po dobu 16 hodin. Poté se extrahuje přes SPE kolonku se slabým aniontoměničem WAX. Tato metoda je vhodná pro některé analyty, zvláště pro FTOH, při kterých se dosahuje vyšší výtěžnosti než u jiných metod extrakce. [19]

3.8.3.3 Přečištění extraktu z biotických matric

Při extrakci perfluorovaných sloučenin z biotických matric dochází ke koextrakci řady látek, které mohou rušit při další analýze, případně mohou poškozovat, nebo zkracovat životnost instrumentálního zařízení. K odstranění těchto látek lze použít řadu metod. Častým krokem je filtrace na nylonových nebo polypropylenových filtrech. Saponifikace lipidů se provádí přidávkou 10% roztoku KOH v methanolu a zahřátím vzorku na teplotu 80°C po dobu 1 hodiny. Následně je provedena reextrakce vzorku. [26]

Možné je také použití alternativních postupů, jako jsou přidavek aktivního uhlí nebo destruktivní metody uvedené v kapitole 3.8.2.3. V řadě případů není však přečištění extraktu zapotřebí, extrakt se pouze odpaří do sucha a odparek se rozpustí ve vhodném rozpouštědle pro další analýzu.

3.8.4 Analýza vzduchu

3.8.4.1 Vzorkování vzduchu

PFAS jsou ve vzduchu přítomné většinou navázané na suspendovaných částicích, případně volné ve vzduchu. Koncentrace jsou všeobecně velmi nízké, pohybují se v řádech pg/m³ vzduchu. Nejvíce jsou zastoupeny FTOH a PFOSA. Z těchto předpokladů vycházejí i požadavky na správné vzorkování. Používají se postupy a vzorkovače, které jsou běžné pro jiné halogenované organické látky. Vzorkovače jsou koncipovány tak, aby přes ně proudilo velké množství vzduchu, cca 20-1800 m³. Rychlost proudění je přibližně 1-1,5 m³/h. Při velkých objemech vzduchu to může být až 18 m³/h. Vzduch proudí přes skleněné nebo křemenné filtry, kde jsou zachyceny pevné částice. Dále vzduch prochází přes sendvičové kolony typu PUF/XAD/PUF, nebo pouze přes PUF. Tyto sorbenty však zcela nezachycují nejvíce těkavé látky, jako 4:2 FTOH. Pro tyto látky je lepší použít sorbent 6:2 perfluorooctyl akrylát; zachycené množství dosahovalo v tomto případě až 100% pro 6:2 - 10:2 FTOH. Pro 4:2 FTOH a PFOSA byly výtěžnosti podstatně nižší, značně nadhodnocené byly pro N-substituované FOSEs (300%). Tento artefakt lze odstranit, pokud použijeme kolony pro SPE kolony typu XAD-2, XAD-4. [18,28]

3.8.4.2 Extrakce a přečištění extraktu vzdušných vzorků

Extrakce analytů z pevných částí probíhá stejnými extrakčními metodami, které již byly popsány pro extrakci z pevných abiotických matric. Extrakce ze sorbentů se provádí do organických rozpouštědel. Používají se středně polární až nepochybně rozpouštědla, nebo jejich směsi. Často používané jsou také methanol, petrolether, ethylacetát a hexan.[18]

Při optimalizaci extrakce pomocí SPE kolon bylo zjištěno, že 97% analytů přejde do prvních 10 ml extrakčního činidla (ethylacetát). Nejvíce jich je extrahováno v prvních 3 ml. Při následném použití vakuové odparky pro redukci objemu se přidává několik kapek isooktanu pro omezení ztrát třetím.[27] Přečištění extraktu obvykle není zapotřebí a po úpravě objemu je možné extrakt přímo použít k finální analýze. Někteří autoři používají k přečištění extraktu sloupcovou chromatografii na alumině nebo na florisilu.[18,27]

3.8.5 Analytická koncovka stanovení PFASs

Jako analytická koncovka celého procesu stanovení perfluorovaných látek se nejčastěji uplatňuje kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií v jednoduchém uspořádání LC-MS nebo s tandemovou hmotnostní spektrometrií LC-MS/MS. Možné je rovněž použití plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) nebo s detektorem elektronového zachytu (GC-ECD). K separaci a identifikaci těchto látek lze použít také kapilární zónovou elektroforézu s nepřímou fotometrickou detekcí (CZE).

3.8.5.1 Kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

Pro separaci PFASs se používá vysokoúčinná kapalinová chromatografie na reverzní fázi (RP-HPLC). Při separaci je nejčastěji používaná nepolární stacionární fáze se skupinami C_{18} , a to pro všechny typy analytů. Možné je rovněž použití fáze se skupinami C_8 a perfluorovanými C_8 skupinami. Mobilní fáze a eluční podmínky se liší podle typu látek, které chceme separovat. Převládá zejména gradientová eluce směsí MeOH/voda.[22,23]

Pro separaci PFCAs je možné aplikovat kolonu s náplní C_{18} o rozměrech (150mm x 3mm x 3 μ m). Eluce probíhá isokraticky, mobilní fáze o složení acetonitril/26 μ M ledová kyselina octová v poměru 60:40(v/v) průtokem 0,3 ml/min, při teplotě 30°C. Nástřik pro takovou separaci je 20 μ l.[28]

Pro separaci FTOH a PFCAs s krátkým a dlouhým řetězcem můžeme použít kolonu se stacionární náplní C_{18} o rozměrech (50mm x 2,1 mm x 5 μ m). Nástřik vzorku je 10 μ l. Elučním činidlem je směs methanol/2mM vodný roztok octanu amonného při průtoku 300 μ l/min. Gradientová eluce začíná směsí s 10% MeOH, po 0,1 min se obsah MeOH zvýší na 30%, v 7 minutě na 75% a v 10 minutě na 100% MeOH. Po 12minutě se vrátí k původním podmínkám a eluuje se do 20 minut.[19] Obdobný způsob byl použit i pro separaci PFOS a příbuzných látek.[16]

Pro separaci PFASs je možné také použití kolon se stacionární fází se skupinami C_{18} o rozměru (250mm x 4,6mm x 5 μ m), nebo s perfluorovanou C_8 fází o rozměru (150mm x 4,6mm x 5 μ m). Jako eluční činidlo se používá směs MeOH/MilliQ voda. Pro eluci neionogenních látek se eluce zahájí se směsí MeOH/voda v poměru 60:40(v/v); dále lineárně vzrůstá podíl MeOH na 90:10(v/v) během 12 minut. Při těchto podmínkách eluce probíhá cca 30 minut. Průtok při eluci je 0,8 ml/min. Pro separaci ionogenních látek je prvním elučním činidlem gradientové eluce 20% MeOH a jeho podíl se lineárně zvyšuje až na 90%, a to

během 12 minut. Poté eluce probíhá ze stejných podmínek 30 minut. Průtok mobilní fáze je opět 0,8 ml/min.[23]

Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LC-MS, LC-MS/MS) stává dnes již standardní metodou pro detekci ionogenních perfluorovaných látek. Pro ionizaci PFASs v hmotnostním spektrometru se používá elektrospray ionizace v negativním módu [(ESI(-)]. Jako sušící plyn byl použit dusík a jako kolizní plyn argon.[28] Další z možností ionizace je chemická ionizace probíhající za atmosférického tlaku (APCI).[23]

3.8.5.2 Plynová chromatografie, GC-FID, GC-ECD, GC-MS

Plynová chromatografie je vhodnou analytickou koncovkou pro neionogenní těkavé PFASs, jako jsou sulfonamidy a fluorotelomerní alkoholy, protože mají vyšší tlak páry. Obvykle dosahuje několika stovek Pa. Ionogenní látky, které mají nízký tlak páry, je nutné před stanovením pomocí GC metod nejprve derivatizovat na těkavější sloučeniny. Bohužel však často dochází k tomu, že derivatizační reakce nemusí být reprodukovatelná.[1] PFCA se derivatizují na methyl-, ethyl- případně buthyl estery, které jsou těkavé. Následuje jejich detekce ECD nebo MS. PFCAs s krátkým řetězcem, jejichž methyl deriváty jsou extrémně těkavé a analýza je obtížnější, je možné derivatizovat v kyselých podmínkách 2,4-difluoranilinem na PFCA 2,4-difluoranilid; následně se použije detekce pomocí MS.[20] PFOS má velmi malý tlak páry a jeho deriváty jsou nestabilní, a proto pro jejich stanovení není vhodné používat GC.[1]

Separaci analytů je možné provést na různých kolonách, např. DB-5MS, DB-WAX a DB-1701.[29,30,31] Obvyklé podmínky separace vypadají následovně: separace probíhá na koloně DB-WAX (30m x 0,25mm, tloušťka filmu 1μm), jako nosný plyn se používá helium. Vzorek je dávkován prostřednictvím bezděličového nástřiku vzorku (1 μl) při teplotě 200°C a tlaku 40Psi. Počáteční teplota kolony – 60°C trvala 1 minutu, pak se teplota zvedala o 3°C/min na teplotu 75°C a následně po 20°C/min do teploty 240°C, kde také setrvává jednu minutu.[29]

Jako detekční metodu lze použít plamenový ionizační detektor (FID), který však pro svoji neselektivnost a poměrně nižší citlivost není pro tyto látky příliš často používán. Protože molekuly obsahují atomy fluoru, je možné použít detektor elektronového zachytu (ECD), který je selektivní pro halogenované látky. [26] Při analýze složitých matric však nemusí být jeho selektivita dostačující.[1] Nejpoužívanější analytickou koncovkou s využitím plynové chromatografie je spojení s hmotnostním spektrometrem (GC-MS), které zajišťuje dobrou identifikaci i kvantifikaci analytů. Ionizaci lze provést nárazem elektronů (EI)[30], negativní chemickou ionizací (NCI), nebo pozitivní chemickou ionizací (PCI) s methanem jako reakčním plynem, a to pro oba způsoby ionizace.[29]

3.8.5.3 Kapilární zónová elektroforéza

Tato metoda byla ověřována pro stanovení PFCAs s počtem uhlíků v řetězci C₆-C₁₂ přítomných ve vodě, s nepřímou fotometrickou pomocí. Optimální podmínky byly následující: pH = 9, složení elektrolytu 50% MeOH, 50mM tris(hydroxymethyl) aminomethan, 7mM 2,4-dinitrobenzoová kyselina jako chromofor, napětí 25kV, kapilára 60/50 cm x 75 μm; s jejich použitím bylo dosaženo detekčních limitů 0,6-2,4 ppm. Tuto metodu lze rovněž použít při analýze PFCAs, ale nedosahuje tak dobrých výsledků jako HPLC, případně GC.[32]

Tabulka XI *Přehled analytických metod PFASs [1]*

PFAS	n	Matrice	extrakce/přečištění	derivati- zace	analytická koncovka	LOD
PFC_nA	8-13	voda	SPE (C ₁₈)		LC-MS ²	25 ng/l
	8-9		SPE (HLB)		LC-MS ²	1,8-5,2 pg/l
	6,8-10		SPE (HR-P)		LC-MS ²	0,01-0,15 ng/l
	5-8,12		SPE (C ₁₈)		LC-MS ²	1-8 pg/l
	6-12		SPE (C ₁₈)		LC-ESI-TOF-MS	10-300 pg/l
	5-8,12		SPE (C ₁₈)		NMR	-
	6-12		SPE (SDB)		LC-MS ²	0,3 ng/l
	6-12		PLE (MeOH)		LC-ESI-TOF-MS	10-300 pg/l
	6-8,12		SAX disk extrakce	methyl - ester	GC-EI-MS	18 µg/l
	7-10		SPME (PDMS vlákno)	butyl ester	GC-NCI-MS	0,1-0,75 µg/l
	1-6	pevné matrice	není		IC-CD	0,1 mg/l
	6-12		sonikace		LC-MS ²	-
	8,9,12		LLE (MTBE)		LC-MS	0,4 ng/g
	7-10		PLE (aceton:MeOH + MeOH-H ₃ PO ₄)	butyl ester	GC-NCI-MS	0,5-0,8 ng/g
	8		PLE (EtOAc-DMF)		LC-MS	6 µg/g
	6-14		SPE (envi-Carb)		LC-MS ²	1 ng/g
	8-14		sonikace (9:1 MeOH, 1% Ac), centrifugace + SPE (C ₁₈)		LC-MS ²	0,01-0,25 ng/g
	8	biota	LLE (MTBE), TBA	difluoro-anilid	LC-MS ²	5 ng/g
	6-12,14		LLE (CAN), Carbon		LC-MS ²	5 ng/g
	7-14		LLE (MTBE), TBA		GC-MS ²	10 pg/g
	6-12,14		sonikace (MeOH/H ₂ O, NH ₄ Ac)		LC-TOF-MS	1-8 pg/g
PFC_nS	4 -8	voda	SPE (C ₁₈)		LC-MS ²	0,4-60000 pg/l
	4 -8		SPE (HBL)		LC-MS ²	0,4-0,8 pg/l
	6-12		SPE (C ₁₈)		LC-ESI-TOF-MS	10-300 pg/l
	8		TFC (on line extrakce)		LC-LC/APPI-MS	5,35 ng/l
	6,8		SPE (HR-P)		LC-MS ²	0,01-0,15 ng/l
	4 -8		(přímý vstřík)		LC-MS ²	0,15-0,36 µg/l
	4 -8		SPE (C ₁₈)		LC-MS ²	3-5 pg/l
	4 -8		SPE (C ₁₈)		NMR	10 µg/l
	1,4,8		-		ATR-FTIR	7,5-30 µg/l
	8	pevné matrice	PLE (EtOAc-DMF)		LC-MS	6 µg/g
	6,8,10		sonikace (9:1 MeOH, 1% Ac), centrifugace + SPE (C ₁₈)		LC-MS ²	0,04-0,11 ng/g
	6,8	biota	LLE (MTBE), TBA		LC-MS ²	2-8 ng/g
	4,6,8,10		sonikace (MeOH/H ₂ O, NH ₄ Ac)		LC-TOF-MS	0,2-0,5 pg/g
	8	vzduch	XAD, acetone/hexan, florisil, EtAc		LC-MS	-

Tabulka XI *Přehled analytických metod PFASs - pokračování*

PFAS	n	Matrice	extrakce/přečištění	derivati- zace	analytická koncovka	LOD
PFC_nSA	8	voda	SPE(HBL)		LC-MS ²	1 pg/l
	8		SPE(C ₁₈)		LC-ESI-TOF-MS	10-300 pg/l
	8		SPE(HR-P)		LC-MS ²	0,01-0,15 ng/l
	FOSAA, N-MeFOSAA, N-EtFOSAA	pevné matrice	sonikace (9:1MeOH,1%Ac), centrifugace+SPE(C ₁₈)		LC-MS ²	0,11-0,12 ng/g
	8	biota	LLE(MTBE), TBA		LC-MS ²	3,5 ng/g
	8		sonikace(MeOH/H ₂ O, NH ₄ Ac)		LC-TOF-MS	0,5 pg/g
	N-EtFOSA	vzduch	XAD, MeOH,EtAc		GC-PCI/NCI-MS	1,6 pg/m ³
	N-EtFOSA		XAD,Aceton/hexan, florosil,EtAc		LC-MS	-
FTS	6:2	voda	SPE(HBL)		LC-MS ²	0,02 ng/l
	4:2-8:2		přímý vstřík		LC-MS ²	0,33 µg/l
	6:2-10:2	pevné matrice	SPE(envi-carb)		LC-MS ²	<ng/g
	6:2	biota	sonikace(MeOH/H ₂ O, NH ₄ Ac)		LC-TOF-MS	5 pg/g
FTOH	8:2	biota	LLE(okyselení, hexan/heptan),SiO ₂ colona, isopropanol		GC-MS	4-12 ng/g
	4:2,6:2,8:2, 10:2	vzduch	XAD,MeOH,EtAc		GC-PCI/NCI-MS	0,15-4,5 pg/m ³

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Používané přístroje, zařízení a software

Zařízení pro přípravu a extrakci vzorků:

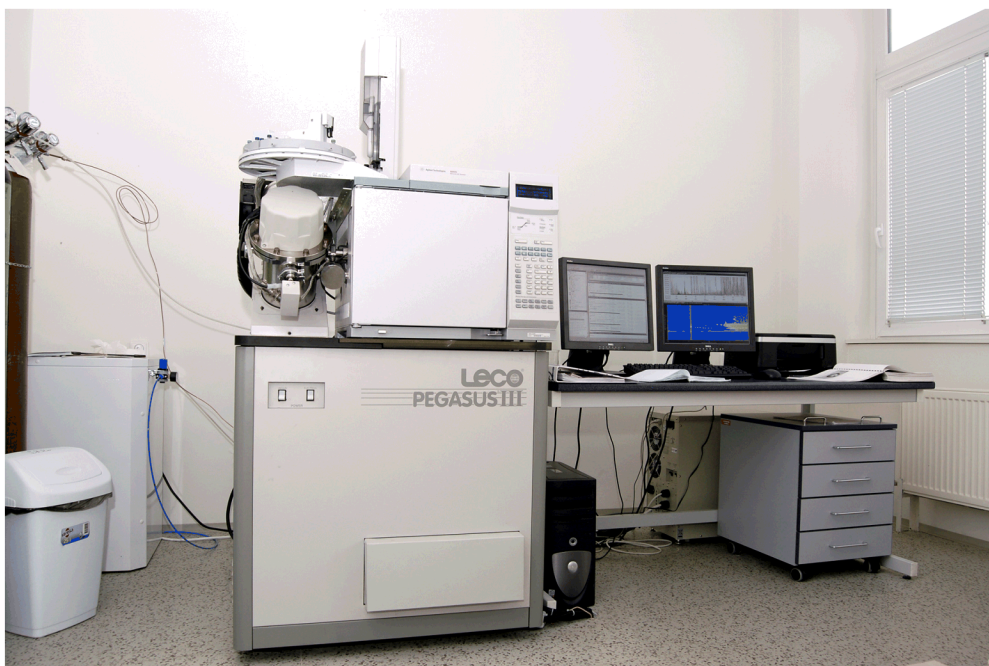
- Analytické váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko
- Rotační vakuová odparka RVO Büchi Rotavapor R-205 s vodní lázní B-490 a elektronickým řízením vakua V-800, Švýcarsko
- Ultrazvuková vodní lázeň, typ Teson 4, Tesla, Česká republika
- zařízení pro SPE extrakci Baker SPE-12G
- zařízení pro odpařování pod dusíkem s topením Labicom Evaterm, Česká republika
- zařízení pro přípravu MilliQ vody Millipore QGARD[®],
- běžné vybavení analytické laboratoře

LECO Pegasus III GCxGC-TOF-MS:

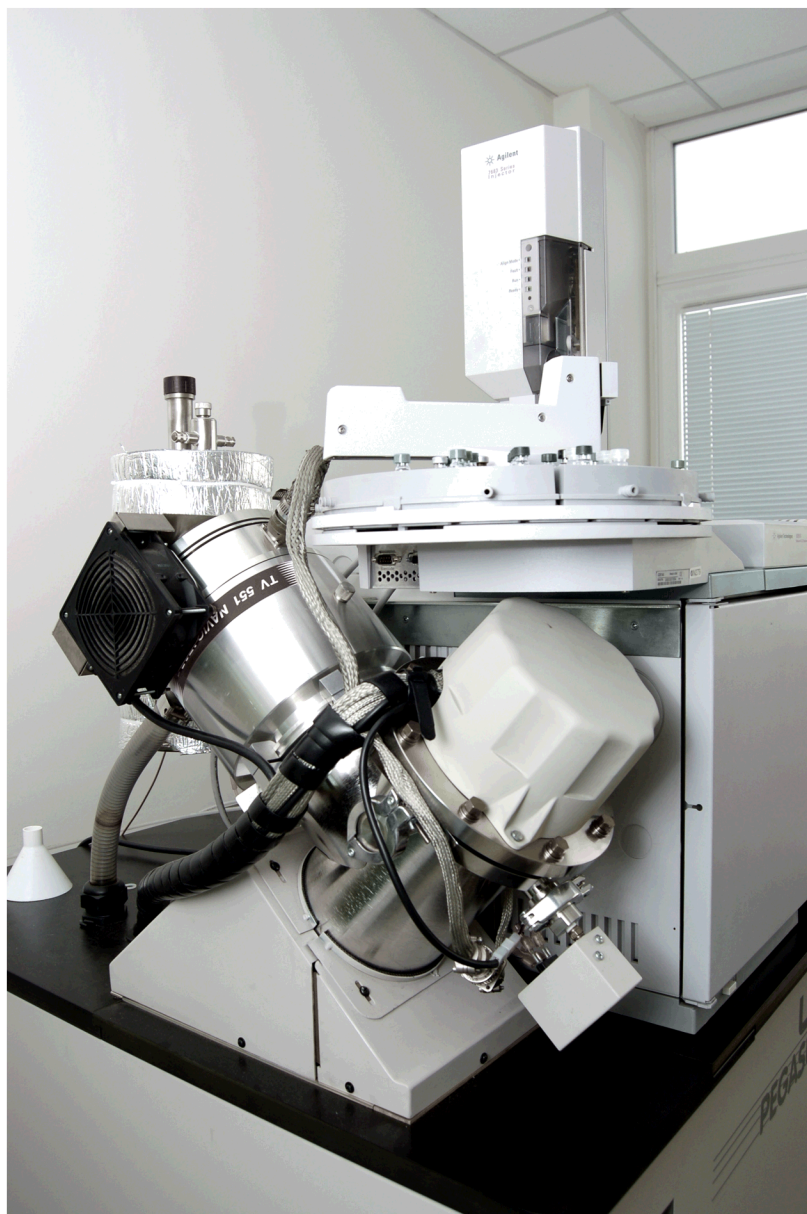
- Plynový chromatograf Hewlett-Packard 6890N GCxGC, (Agilent, USA)
- Automatický injektor pro plynový chromatograf HP 7683 s mikrostřikačkou 10 μ l, Hamilton (USA)
- Primární kolona DB 5 (60m x 0,025mm x 0,25 μ m)
- Sekundární kolona DB 17 (1,1m x 0,1mm x 0,1 μ m)

Software pro zpracování dat:

- ChromatofTM Version 2.22 (USA)
- Pegasus[®] Driver Version 2.10 (USA)
- Microsoft Excel 2000, verze 9.0 (Microsoft Corporation, USA)
- Microsoft Word 2000, verze 9.0 (Microsoft Corporation, USA)
- ACD ChemSketch, verze 5.12 (Advanced Chemistry Development, Inc.)



Obrázek 6 LECO PEGASUS III



Obrázek 7 Detail hmotnostního spektrometru

4.2 Chemikálie, spotřební materiál a standardy

Rozpouštědla

- Methanol Chromasolv[®], obsah 99,9%, pro HPLC, Sigma-Aldrich, Německo
- Isooktan Uvasol[®], obsah 99,8%, pro spektroskopii, Merck, Německo
- Ethylacetát Labscan, obsah 99,8%, pro HPLC, Lach-ner, Česká republika
- *tert*-butyl methyl éter (MTBE) Chromasolv[®], obsah 99,8%, pro HPLC, Sigma-Aldrich, Německo

Chemikálie a jiné materiály

- filtrační papír ze skleněných vláken, typ Z4 QSC-6250, Papírna Prostějov s.r.o, Česká republika
- kyselina sírová 97%, PENTA, Česká republika
- amoniak, vodný roztok 25-27%, PENTA, Česká republika
- hydroxid sodný 97%, ONEX, Česká republika
- běžně dostupné chemikálie ve stopové analytické laboratoři

Použité SPE extrakční kolony:

- SUPELCLAN[™], ENVI[™]-18 SPE Tube, 6 ml, 500 mg sorbentu, SUPELCO, USA
- LiChrolut[®], 6 ml, 500 mg sorbentu 40-120 µm, MERCK, Německo
- SUPELCLAN[™], LC-SAX SPE Tube, Sigma-Aldrich, Německo

Technické plyny

- Dusík 4,6; Linde technoplyn a.s.
- Helium 6,0; Messer Austria GmbH

Použité standardy

- standard Perfluorooctansulfonamid (PFOSA), roztok v isooktanu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada
- standard N-Methylperfluorooctansulfonamid (N-MeFOSA), roztok v isooktanu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada
- standard N-Ethylperfluorooctansulfonamid (N-EtFOSA), roztok v isooktanu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada

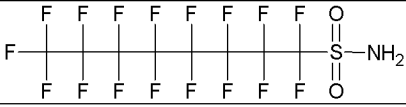
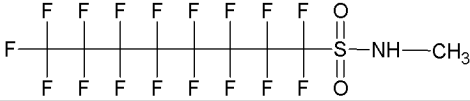
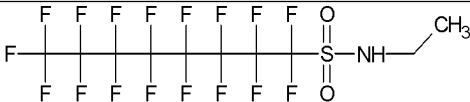
4.3 Studovaná matrice

- byla studována pouze jedna matrice a to voda - povrchová a odpadní
- vzorky byly odebírány do 2,5 litrových tmavých skleněných lahví
- před analýzou byly uloženy ve tmě při 4°C
- podrobnosti o vzorcích viz. kapitola 5.6
- lokalizace uvedena v příloze

4.4 Pracovní postupy

4.4.1. Přehled stanovovaných analytů

Tabulka 1 *Přehled stanovovaných analytů*

název	zkratka	CAS	strukturní vzorec
perfluorooctansulfonamid	PFOSA	754-91-6	
N-methyl perfluorooctansulfonamid	N-MeFOSA	31506-32-8	
N-ethyl perfluorooctansulfonamid	N-EtFOSA	4151-50-2	

4.1.2 Princip metody

Analyty byly z vody extrahovány přímou extrakcí rozpouštědlem (LLE), případně byly extrahovány na tuhou fázi (SPE). Pro získání optimálního postupu byly použity různé druhy kolon a různé analytické postupy, jejichž ověření bylo rovněž součástí experimentálního řešení diplomové práce. V případě LLE byl extrakt vysušen do sucha na vakuové rotační odparce a odparek byl následně rozpuštěn v isooktanu; při aplikaci SPE byl eluát vysušen do sucha pod proudem dusíku a odparek byl rovněž rozpuštěn v isooktanu. Identifikace a kvantifikace jednotlivých analytů se prováděla pomocí vysokorozlišovací plynové chromatografie (HRGC) s hmotnostním spektrometrem (MS), k identifikaci bylo použito srovnání hmotnostních spekter a kvantifikace metodou kalibrační křivky tj. technikou externí kalibrace.

4.1.3 Postupy při extrakci na pevnou fázi (SPE)

Postup č.1:

- SPE kolona byla promývána 10 ml methanolu rychlostí 2 kapky/s
- následně byla promyta 10 ml 1% kyseliny octové rychlostí 2 kapky/s
- poté byl nanesen vzorek, jehož pH bylo upraveno na hodnotu 7; rychlost průtoku kolonou byla upravena na 1 kapku/s
- kolona byla sušena po dobu 1 hodiny na vzduchu
- následná eluce probíhala pomocí 4 ml methanolu rychlostí 1 kapka/s
- eluát byl pod proudem dusíku odpařen do sucha (teplota 40°C); odparek byl rozpuštěn v 1 ml isooktanu

Postup č.2:

- SPE kolona byla promývána 3 ml směsí MeOH:ethylacetát v poměru 1:1 rychlostí 2 kapky/s
- následně byla kolona promyta 3 ml čistého methanolu; rychlost průtoku elučního činidla kolonou byl 2 kapky/s
- dále byla kolona promývána 3 ml vody, rychlost 2 kapky/s
- byl nanesen extrakt vzorku, jehož pH bylo upraveno na hodnotu pH 7; rychlost průtoku kolonou 1 kapka/s

- následovalo promytí kolony směsí H₂O:MeOH smíchané v poměru 95:5; rychlost průtoku mobilní fáze byla 2 kapky/s
- poté byla kolona sušena hodinu na vzduchu
- eluce probíhala směsí MeOH:ethylacetát v poměru 1:1 rychlostí 1 kapka/s
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při teplotě 40°C; odparek byl rozpuštěn v 1 ml isooktanu

Postup č. 3:

- kolona byla promyta 5-ti ml MeOH; eluce probíhala rychlostí 2 kapky/s
- dále byla kolona promyta 5-ti ml H₂O rychlostí 2 kapky/s
- potom byl nanesen vzorek o pH 7; rychlost eluce byla 1 kapka/s
- následovalo sušení kolony 1 hodinu na vzduchu
- eluce probíhala 4 ml MeOH rychlostí 1 kapka/s
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při 40°C a odparek byl rozpuštěn v 1 ml isooktanu

Postup č. 4:

- kolona byla promyta 4 ml 0,1% roztoku NH₄OH v MeOH rychlostí 2 kapky/s
- následovalo promytí kolony 4 ml MeOH rychlostí 2 kapky/s
- poté byla kolona promyta 4 ml H₂O rychlostí 2 kapky/s
- byl aplikován vzorek, jehož pH bylo upraveno na pH 7; rychlost eluce 1 kapka/s
- kolona byla 1 hodinu sušena na vzduchu
- 4 ml MeOH byly použity pro první eluci, která probíhala rychlostí 1 kapka/s - frakce F₁
- druhá eluce probíhala pomocí 0,1% roztoku NH₄OH v MeOH rychlostí 1 kapka/s - frakce F₂
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při teplotě 40°C a odparek byl rozpuštěn v 1 ml isooktanu

4.1.4 Postup při extrakci kapalina-kapalina (LLE)

- byla provedena extrakce se 200 ml vzorku vody
- při použití 1 litru vzorku byl rozdělen na 2x 500 ml vzorek vody,
- na objem vzorku 200 ml a 1 l byl použit následující postup
- vzorek byl v dělicí nálevce třepán s 60 ml MTBE po dobu deseti minut; po rozdělení vrstev byla vodná vrstva oddělena
- vodná vrstva byla následně třepána 2x po dobu deseti minut s 30 ml MTBE
- extrakty byly spojeny a ve vakuové odparce zahuštěny na objem cca 5 ml
- zahuštěný extrakt byl vysušen síranem sodným bezvodým a odstředěn na centrifuze po dobu dvou minut při 3000 otáčkách za minutu
- vysušený extrakt byl odpařen do sucha na vakuové rotační odparce
- odparek byl rozpuštěn v 1 ml isooktanu

4.1.5 Identifikace a kvantifikace analytů:

Analýza standardů a vzorků byla provedena pomocí vysokorozlišovací plynové chromatografie (HRGC). Použitá kolona byla křemenná kapilára o délce 60 m, se stacionární

fázi DB5 o tloušťce 0,25 μm . Jako detektor byl použit hmotnostní spektrometr (MS) s analyzátozem typu time-of-flight (TOF), analyzátor doby letu. Standardy i vzorky byly analyzovány jednorozměrnou plynovou chromatografií. Identifikace analytů byla provedena porovnáním hmotnostních spekter analytů s hmotnostními spektry uloženými v knihovně spekter. Kvantifikace analytů je založena na technice absolutní kalibrace metodou vícebodové kalibrační křivky pro každý analyt (porovnání bylo provedeno podle plochy píků). Kvantifikace byla provedena na základě sledování vybraných charakteristických fragmentů. Pro kvantifikaci N-MeFOSA byl zvolen fragment m/z 94, pro N-EtFOSA byl sledovaný poměr m/z 108 a pro PFOSA byl sledovaný poměr m/z 80. Na obrázcích 7 a 8 je vidět rozdíl mezi sledováním celého spektra či jednotlivých iontů.

4.1.6 GC-MS podmínky

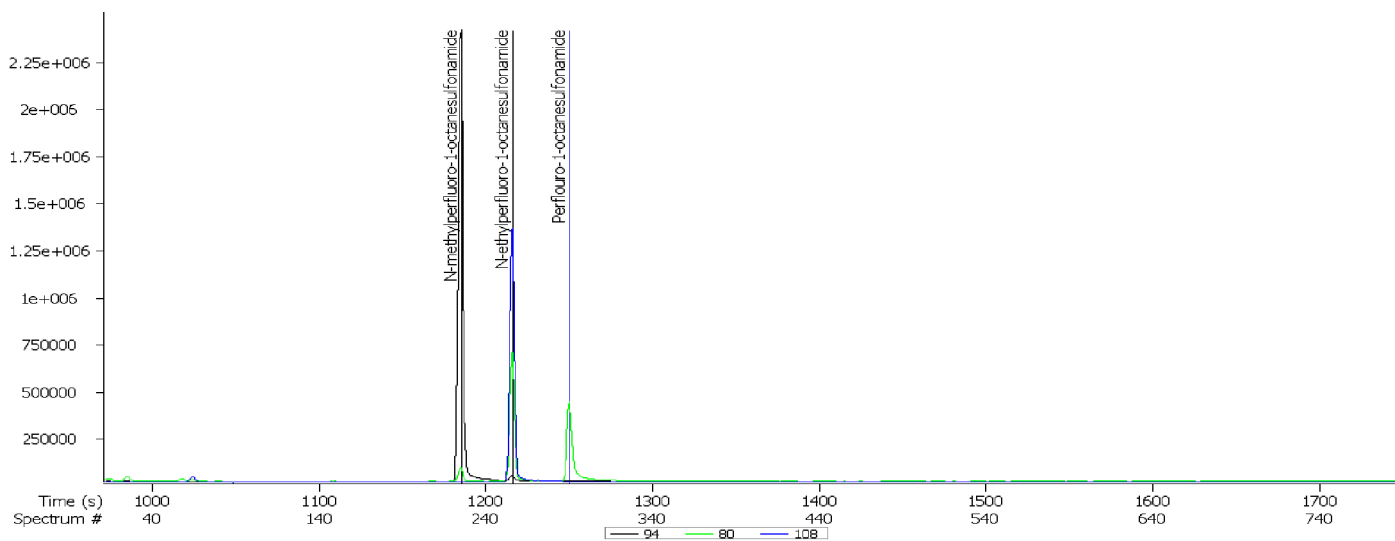
Při optimalizaci podmínek separace při plynové chromatografii a identifikace v hmotnostní spektrometrii bylo vycházeno z podmínek dodaných ke standardům z Wellington Laboratories. K získání co nejlepšího rozlišení a tvaru píků byla řada parametrů metody upravena a konečné GC-MS podmínky jsou následující:

Chromatografické podmínky:

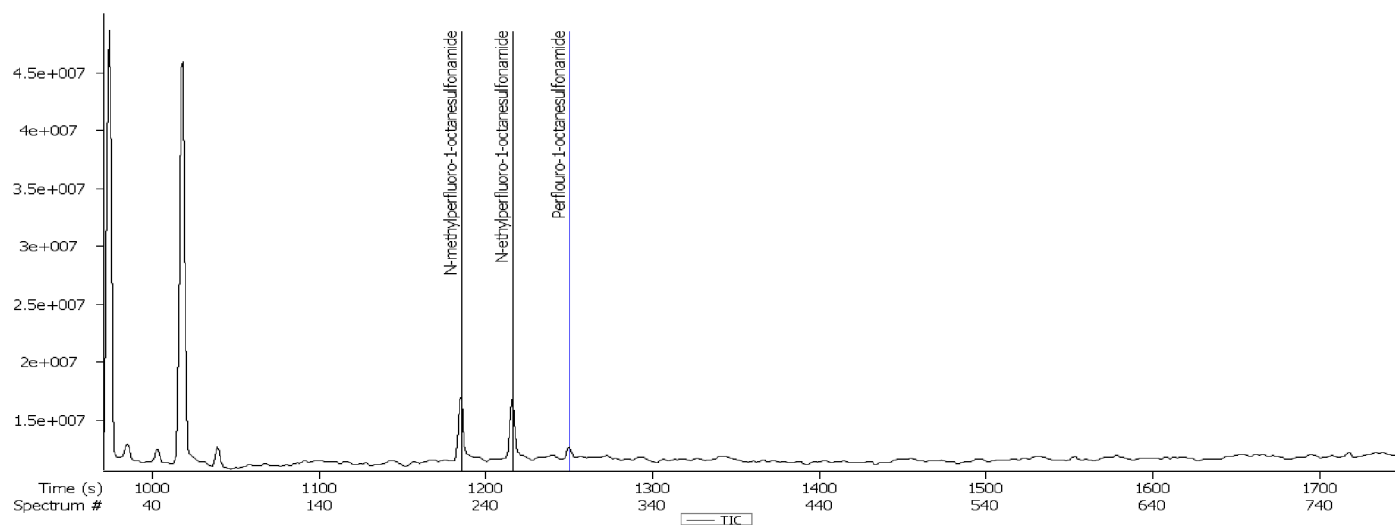
Typ a rozměr kolony	DB-5 (60m x 0,250mm x 0,25 μm)
nosný plyn	helium
typ nástřiku	splitless
průtok	konstantní 1,2 ml/min
teplota inletu	200°C
teplotní program	počáteční teplota 50°C po dobu 2min, zvýšení teploty rychlostí 7°C/min na 230°C, zvýšení teploty rychlostí 15°C/min na 280°C, teplota udržována 10min.
nastříkované množství	1 μl
nosný plyn	Helium 6.0
doba analýzy	39 min

Podmínky na hmotnostním spektrometru:

Solvent delay	16 min
Start mass	50 (u)
End mass	550 (u)
Počet spekter/s	1
Napětí na detektoru	1900V
Filament Bias voltage	-70V
Teplota iontového zdroje	250°C



Obrázek 8 Fragmentogram standardu o koncentraci 166,67 ng/ml.



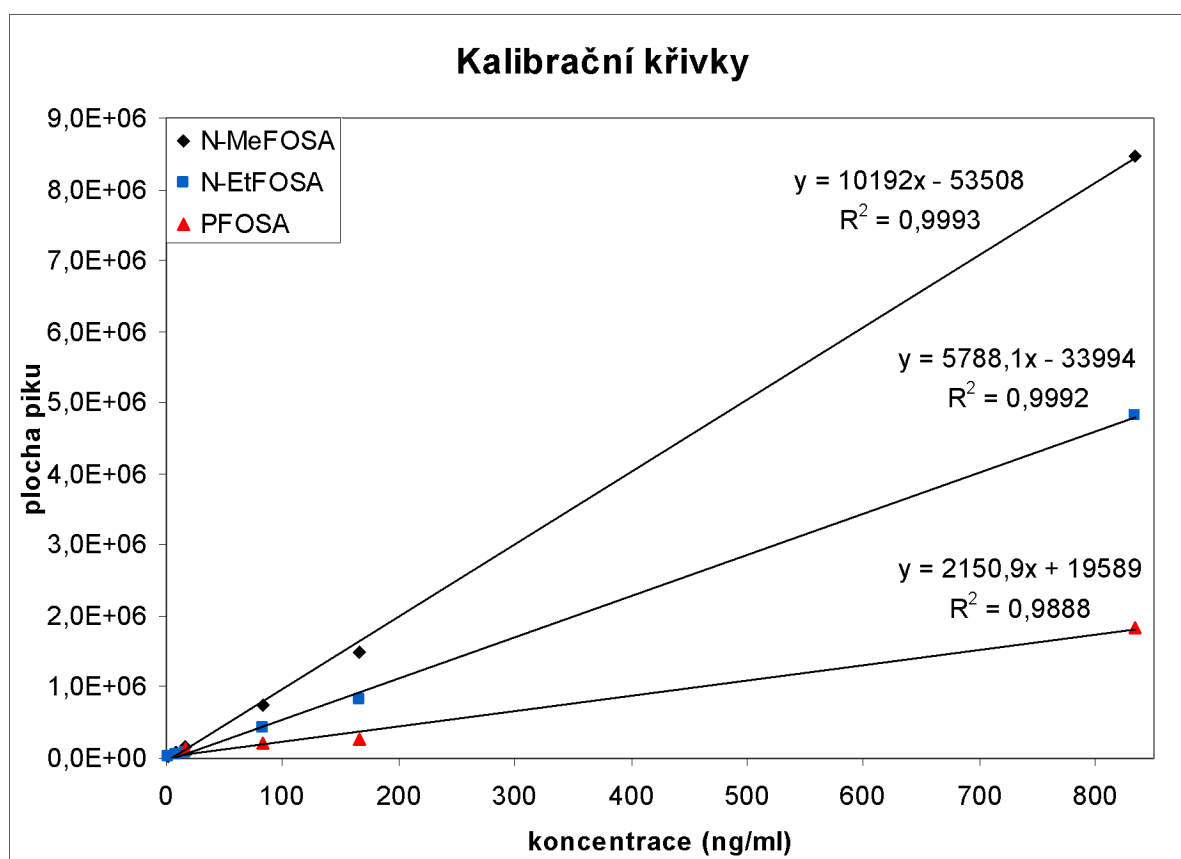
Obrázek 9 Chromatogram standardu o koncentraci 166,67 ng/ml.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

V této kapitole jsou shrnuty výsledky experimentů na modelových nebo reálných vzorcích různých typů vod.

5.1 Kalibrační křivka, mez detekce, mez stanovitelnosti

Pro kvantifikaci analytů ve vzorcích byly naměřeny kalibrační křivky pro jednotlivé analyty. Ze standardů byly naředěny kalibrační řady od koncentrace 1,67 ng/ml do 833,3 ng/ml a kalibrační křivky byly zhotoveny jako závislosti plochy píku na koncentraci analytu. Kalibrační křivky jsou prezentovány na obrázku 9, rovnice kalibračních křivek jsou shrnuty v tabulce 2.



Obrázek 10 Kalibrační křivky

Tabulka 2 Rovnice kalibračních křivek a hodnoty spolehlivosti

analyt	rovnice kalibrační křivky	hodnota spolehlivost R ²
N-MeFOSA	y = 10192,0x - 53508	0,9993
N-EtFOSA	y = 5788,1x - 33994	0,9992
PFOSA	y = 2150,9x + 19589	0,9888

Mez detekce a mez stanovitelnosti byly určeny z šumu základní linie. Mez detekce byla stanovena jako koncentrace, jejíž odezva na detektoru bude mít poměr signálu k šumu větší než 3. Mez stanovitelnosti byla stanovena jako koncentrace, jejíž odezva na detektoru bude mít poměr signálu k šumu větší než 10.

Příklad výpočtu meze detekce pro N-MeFOSA:

Koncentrace $c = 1,67$ ng/ml má poměr signál k šumu $S/N = 18,415$.

$$MD = \frac{c \text{ (ng/ml)}}{S/N} \cdot 3 = MD \text{ ng/ml}$$

$$MD = \frac{1,67}{18,415} \cdot 3 = 0,27 \text{ ng/ml}$$

Příklad výpočtu meze stanovitelnosti pro N-MeFOSA:

Koncentrace $1,67$ ng/ml má poměr signál k šumu $S/N = 18,415$.

$$MS = \frac{c \text{ (ng/ml)}}{S/N} \cdot 10 = MS \text{ ng/ml}$$

$$MS = \frac{1,67}{18,415} \cdot 10 = 0,91 \text{ ng/ml}$$

Vypočítané meze detekce a meze stanovitelnosti pro jednotlivé látky identifikované na plynovém chromatografu ve spojení s hmotnostním spektrometrem jsou shrnuty v tabulce 3.

Tabulka 3 Meze detekce a meze stanovitelnosti pro jednotlivé látky

látko	mez detekce (ng/ml)	mez stanovitelnosti (ng/ml)
N-MeFOSA	0,3	1
N-EtFOSA	0,6	2
PFOSA	0,6	2

5.2 Spikování vody

Spikování vody bylo provedeno tak, že $100 \mu\text{l}$ standardu v isooktanu o koncentraci $1,67 \mu\text{g/ml}$ bylo rozpuštěno v 1 ml MeOH a potom ve vodě. V dalším textu je tento postup označen jako postup č.1. Tento způsob se však příliš neosvědčil, protože i po působení ultrazvuku zůstala pravděpodobně část standardu nerozpuštěna a výsledky získané tímto způsobem byly zkreslené. Proto byl postup spikování vody změněn na postup č.2. Spikování bylo provedeno tak, že v 1 ml MeOH bylo rozpuštěno $10 \mu\text{l}$ standardu v isooktanu o koncentraci $16,67 \mu\text{g/ml}$ a methanolvý roztok byl rozpuštěn ve vodě. Druhým možným a použitým postupem, označeným jako postup č.3, bylo rozpuštění $10 \mu\text{l}$ standardu v isooktanu o koncentraci $16,67 \mu\text{g/ml}$; tento methanolvý roztok byl odpařen pod proudem dusíku do sucha při teplotě 40°C a odparek byl v ultrazvukové lázni rozpuštěn přímo ve vodě. Spikování vody bylo prováděno do 1 litru, tzn. že výsledná koncentrace ve vodě byla $166,67 \text{ ng/l}$, nebo ve 200 ml vody. V tomto případě byla výsledná koncentrace ve vodě $833,34 \text{ ng/l}$.

5.3 SPE Extrakce

Pro extrakci analytů z vody byly použity různé komerční SPE kolony s různým typem sorbentů, viz kapitola 4.2. Kromě toho byly použity také různé postupy na kolonách, které jsou uvedené v kapitole 4.1.3. Při určování výtěžnosti extrakcí bylo použito 200 ml

Tabulka 4 *Výtěžnost SPE extrakcí.*

látko	spike	kolona	postup	c v 1ml (ng/ml)	výtěžnost %
N-MeFOSA	1	ENVI TM -18 SPE Tube	č.1	5,4	3,5
N-EtFOSA				4,7	2,8
PFOSA				108,2	64,9
N-MeFOSA	1	ENVI TM -18 SPE Tube	č.2	14,6	8,8
N-EtFOSA				13,4	8,0
PFOSA				103,3	62,0
N-MeFOSA	2	ENVI TM -18 SPE Tube	č.3	13,0	7,8
N-EtFOSA				11,5	6,9
PFOSA				99,8	59,9
N-MeFOSA	2	ENVI TM -18 SPE Tube	č.4	11,8	7,1
N-EtFOSA				10,1	6,0
PFOSA				62,6	37,6
N-MeFOSA	2	LiChrolut [®]	č.4	9,9	5,9
N-EtFOSA				9,0	5,4
PFOSA				n.d.	n.d.
N-MeFOSA	2	LC-SAX SPE Tube	č.4	25,8	15,5
N-EtFOSA				45,3	27,2
PFOSA				5,6	3,4
N-MeFOSA	3	ENVI TM -18 SPE Tube	č.3	24,7	14,8
N-EtFOSA				26,4	15,9
PFOSA				124,0	74,4
N-MeFOSA	2	ENVI TM -18 SPE Tube	č.3	16,8	10,1
N-EtFOSA				13,4	8,1
PFOSA				96,2	57,7
N-MeFOSA	3	LiChrolut [®]	č.3	10,5	6,3
N-EtFOSA				9,7	5,8
PFOSA				65,0	39,0
N-MeFOSA	2	LiChrolut [®]	č.3	8,1	4,9
N-EtFOSA				7,1	4,2
PFOSA				64,9	38,9
N-MeFOSA	3	ENVI TM -18 SPE Tube	č.3 pH4	40,6	24,4
N-EtFOSA				33,2	19,9
PFOSA				459,0	275,4
N-MeFOSA	3	LC-SAX SPE Tube	č.4 pH9	46,4	27,8
N-EtFOSA				42,6	25,6
PFOSA				297,2	178,3
N-MeFOSA	3	LC-SAX SPE Tube	č.4 pH7	22,5	13,5
N-EtFOSA				29,2	17,5
PFOSA				35,1	21,1

spikované vody. Kvantifikace analytů byla provedena na základě kalibrační křivky, ze které byly spočítány výtěžnosti jednotlivých postupů na různých kolonách. Výtěžnosti těchto postupů jsou uvedeny v tabulce 4.

Obecně lze říci, že výtěžnosti na SPE kolonách nebyly příliš velké a výrazně se lišily pro jednotlivé kolony a pro jednotlivé látky. Pro analyt PFOSA byly vypočteny vyšší výtěžnosti, než pro analyty N-MeFOSA a N-EtFOSA. Zatímco nejlepší výtěžnosti analytu PFOSA bylo dosaženo na nepolární koloně ENVITM-18 SPE Tube, případně na koloně LiChrolut[®], nejvyšších hodnot výtěžnosti pro látky N-MeFOSA a N-EtFOSA bylo dosaženo na koloně se silným aniontoměničem LC-SAX SPE Tube.

Pro zlepšení výtěžnosti na všech kolonách byla ověřována úprava hodnoty pH vzorku. Na nepolárních kolonách bylo pH vzorku sníženo na hodnotu 4 přidavkem kyseliny sírové. Nižší pH vzorku mělo zabránit případné disociaci analytu a zlepšit jeho zachycení na nepolárním sorbentu. U perfluorovaných sloučenin N-MeFOSA a N-EtFOSA došlo k mírnému zvýšení výtěžnosti, nicméně tato výtěžnost stále nedosahovala hodnot, které byly získány na koloně se silným aniontoměničem. Pro analyt PFOSA byla výtěžnost extrémně vysoká; otázkou je, zdali lze tuto hodnotu považovat za náhodnou chybu měření. Podobné hodnoty výtěžnosti na úrovni 200% byly publikovány také v literatuře, ve které rovněž nebylo uvedeno uspokojivé vysvětlení pro získání této extrémní hodnoty. [18] Při použití kolon se silným aniontoměničem byla za účelem zlepšení výtěžnosti použita také úprava pH, při které byla hodnota zvýšena na hodnotu 9 přidavkem hydroxydu sodného. Zvýšení pH mělo podpořit případnou disociaci látek a při vzniku aniontů zlepšit jejich zachyt na koloně. V případě analytů N-MeFOSA a N-EtFOSA došlo k mírnému zvýšení výtěžnosti, avšak chování analytu PFOSA se od zbylých dvou zase odlišovalo. Tuto odchylku nelze na základě dosud získaných zkušeností prozatím vysvětlit, pravděpodobnou příčinou může být i dosud neobjasněná laboratorní chyba.

Jak již bylo řečeno, výtěžnosti extrakce na SPE kolonách nedosahovaly při použitých postupech dobrých výsledků; z důvodů nutnosti šetření se standardem z Kanady, kterého bylo pro analýzy k dispozici omezené množství, nebyla prováděna opakovatelnost jednotlivých postupů. V tabulce 5 jsou proto shrnuty použité postupy a kolony, na kterých bylo dosaženo nejlepších výsledků pro jednotlivé látky. Pro analyty N-MeFOSA a N-EtFOSA byly použitý pracovní postup i extrakční kolona shodná, stejně jako úprava pH vzorku na hodnotu 9. Výtěžnosti se pro obě látky pohybovaly mírně nad 25%. Pro analyt PFOSA byla z hlediska výtěžnosti extrakce nejlepší nepolární kolona ENVITM-18 SPE Tube společně s postupem č.3, při kterém bylo dosaženo výtěžnosti 74%.

Tabulka 5 Kolony a postupy s nejlepší výtěžností

látka	kolona	postup	výtěžnost %
N-MeFOSA	LC-SAX SPE Tube	č.4 při pH 9	28
N-EtFOSA	LC-SAX SPE Tube	č.4 při pH 9	26
PFOSA	ENVI TM -18 SPE Tube	č.3 při pH 7	74
PFOSA	LiChrolut [®]	č.3 při pH 7	39

Proč jsou výtěžnosti SPE extrakcí poměrně nízké, nelze z dosud provedených měření přesně určit. V průběhu práce byly používány skleněné a polypropylenové nádoby nebo

laboratorní pomůcky. V dosud zveřejněných studiích se údaje od sebe liší; v některých publikacích je upozorňováno na sorpci na sklo, v jiných zase nejsou doporučovány nádoby a zejména vialky z polymerních materiálů, zejména polypropylenu.[18] Snížení výtěžnosti u jednotlivých analytů lze pravděpodobně připsat na úkor možné adsorbce analytů, ať již na sklo, nebo na polypropylen. Možné je rovněž nedokonalé zachycení analytů na sorbentech v kolonách; tento podíl na nejistotě měření může být způsoben ne zcela optimálním postupem pro individuální analyty. Další vysvětlení může představovat také nevratná adsorbce na sorbent v koloně, v důsledku čeho není analyt eluován elučním činidlem. Kolony však byly v rámci prováděné optimalizace metody promývány opakovaně elučním činidlem a v dalších frakcích nebyly již sledované analyty detekovatelné; proto lze poslední možnost považovat za málo pravděpodobnou. Uvedenou ověřenou metodu je možné použít pro analyt PFOSA, u kterého bylo dosaženo dostatečně vysoké výtěžnosti. Naopak u analytů N-MeFOSA a N-EtFOSA byly vypočtené hodnoty výtěžnosti příliš nízké na to, aby bylo možné tento postup pro jejich stanovení použít.

5.4 Extrakce kapalina kapalina (LLE)

Pro extrakci analytů metodou kapalina-kapalina byla zvolena jako extrakční činidlo látka *tert*-butyl methyl ether (MTBE). Pro extrakci byl použit postup uvedený v kapitole 4.1.4. Při určování výtěžností extrakcí bylo použito nejprve 200 ml vody a potom 1 l spikované vody. Kvantifikace analytů byla provedena pomocí kalibračních křivek; z údajů zde prezentovaných byla vypočítána výtěžnost v %. Současně byla také posouzena opakovatelnost analytického postupu, při počtu měření $n = 5$. Výtěžnosti pro extrakci kapalina-kapalina pro 200 ml spikované vody jsou uvedeny v tabulce 6, pro spikovanou vodu o objemu 1 l v tabulce 7. Grafické zpracování je znázorněno na obrázku 11, respektive 12. Současně s extrakcemi byly prováděny i slepé pokusy "blank", ve kterých nebyly nalezeny žádné koncentrace sledovaných látek.

Tabulka 6 *Výtěžnosti MTBE extrakce z 200 ml spikované vody.*

látká	vzorek 1 výtěžnost (%)	vzorek 2 výtěžnost (%)	vzorek 3 výtěžnost (%)	vzorek 4 výtěžnost (%)	vzorek 5 výtěžnost (%)	průměr výtěžnosti (%)
N-MeFOSA	130,7	120,1	90,6	81,1	85	94±18
N-EtFOSA	137,7	132,3	105,5	85,9	90	103±20
PFOSA	289,9	222,1	269,5	222,9	228,9	235±24

Tabulka 7 *Výtěžnosti MTBE extrakce z 1litru spikované vody.*

látká	vzorek 1 výtěžnost (%)	vzorek 2 výtěžnost (%)	vzorek 3 výtěžnost (%)	vzorek 4 výtěžnost (%)	vzorek 5 výtěžnost (%)	průměr výtěžnosti (%)
N-MeFOSA	71,6	57,2	48,7	32	30,1	42±16
N-EtFOSA	70,8	53,7	46,1	30,1	29,6	40±16
PFOSA	137,5	124,8	104,9	64,4	56,3	88±32

Odhad směrodatné odchylky:

Směrodatná odchylka s byla odhadnuta ze vztahu dle Dean-Dixona (pro $n < 7$):

$$s = k_n \times R$$

k_n je tabelovaný koeficient pro jednotlivá n (pro $n = 5$ je $k_n = 0,3946$)

R je rozpětí výsledků (rozdíl extrémních hodnot): $R = x_{max} - x_{min}$

Příklad výpočtu odhadu směrodatné odchylky pro extrakci N-MeFOSE:

$$R = x_{max} - x_{min}$$

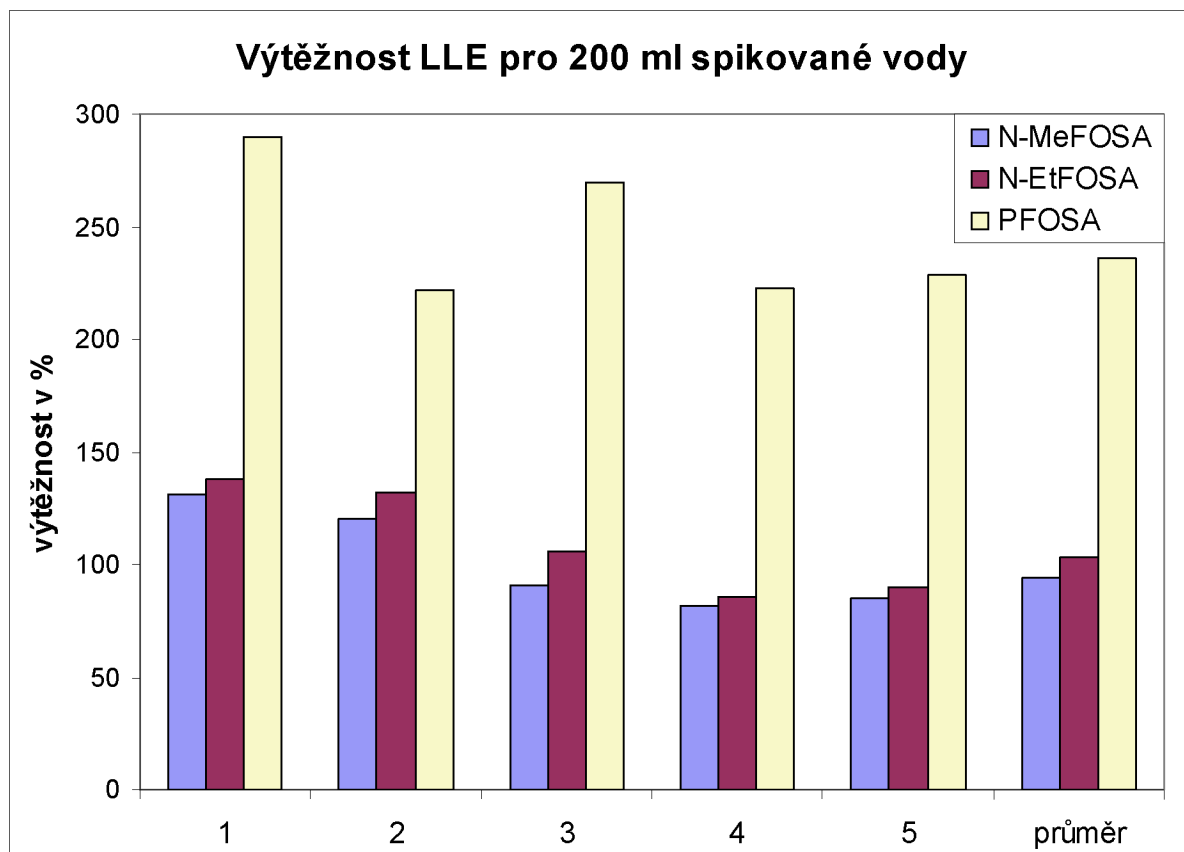
$$R = 130,7 - 85$$

$$R = 45,7$$

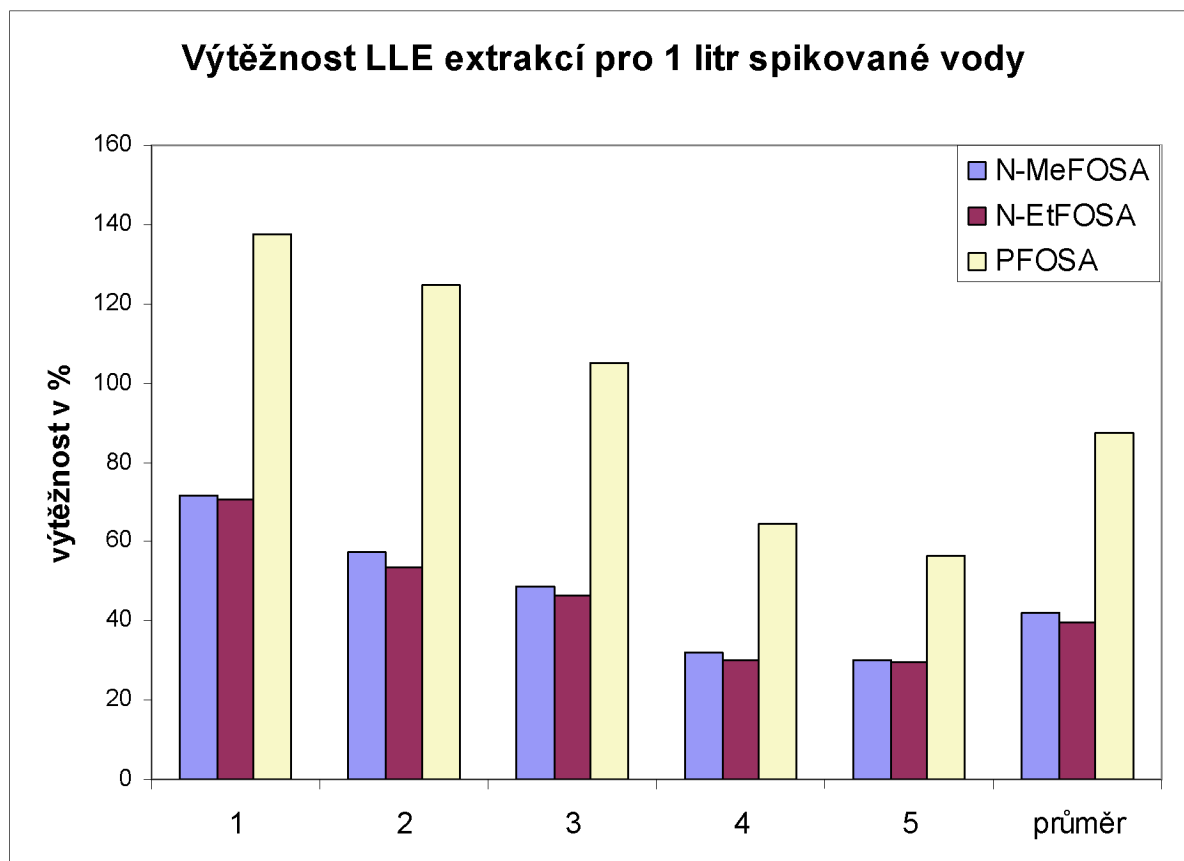
$$s = k_n \times R$$

$$s = 0,3946 \times 45,7$$

$$s = 18,03$$



Obrázek 11 Grafické znázornění výtěžnosti LLE z 200 ml spikované vody.



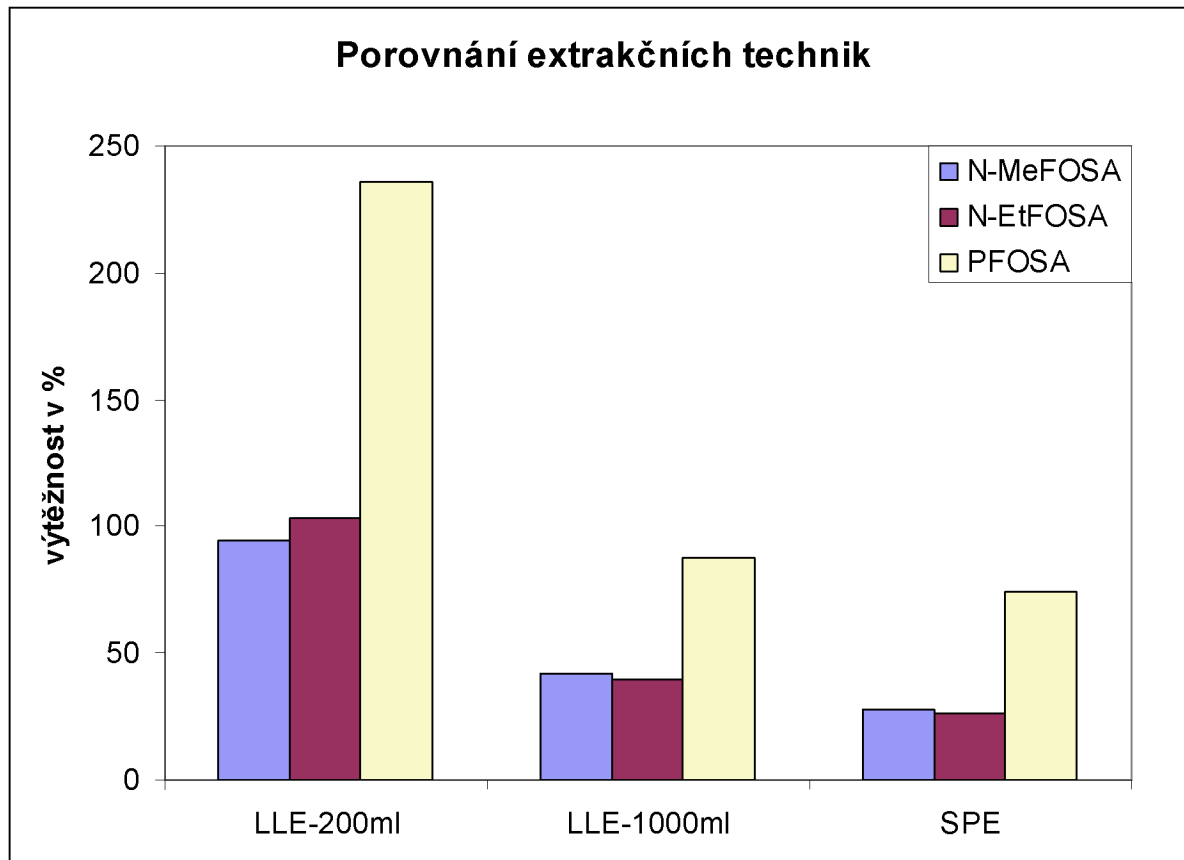
Obrázek 12 Grafické znázornění výtěžnosti LLE z 1 litru spikované vody.

Interpretace výsledků získaných z měření výtěžnosti extrakce kapalina-kapalina je poněkud obtížnější. Obdobně jako u SPE extrakce, dochází zde k rozdílu mezi analytem PFOSA a dalšími dvěma hodnocenými analyty MeFOSA a N-EtFOSA. Analyt PFOSA měl při LLE podstatně vyšší výtěžnost, než zbylé dva analyty. Při extrakcích prováděných ze 200 ml vzorku vody byla jeho výtěžnost extrémně vysoká, dosahovala hodnot vyšších než 230%; výtěžnost zbylých dvou analytů se pohybovala okolo 100%. Pokud byla extrakce provedena z 1000 ml vzorku vody, byla průměrná výtěžnost N-MeFOSA 42%, N-EtFOSA 40% a výtěžnost PFOSA 88%. V rámci pokusu byla prokázána zajímavá skutečnost; postupně s prodlužujícím se časem provedení experimentu docházelo k úbytku analytu. Pravděpodobné vysvětlení spočívá v možnosti adsorbce analytu na sklo vialky, a to ještě před změřením systémem GC-MS, což by se mohlo projevit ve zkreslení výsledků. Z výsledků v práci uvedených dále vyplývá, že účinnější byly extrakce provedené z většího objemu vzorku; v tomto případě byly také stanoveny vyšší koncentrace. Zlepšení výtěžnosti extrakce prováděné s větším objemem vody by patrně pomohlo zvětšení objemu extrakčního činidla nebo zvýšení počtu extrakčních kroků. Tyto experimenty však provedeny nebyly. Předložená diplomová práce má představovat úvodní studii, na kterou budou navazovat další diplomové a doktorské disertační práce zpracovávající v této oblasti na FCH VUT v Brně. Perfluorované sloučeniny patří mezi obtížně hodnotitelné analyty, protože představují různorodou skupinu látek, pro které pravděpodobně nebude možné používat multireziduální metody; při jejich stanovení budeme muset při hledání optimální metody přihlížet k fyzikálně-chemickým vlastnostem analytu a environmentálním vlastnostem hodnocené složky životního prostředí.

5.5 Porovnání SPE a LLE

Každá z extrakčních technik nese s sebou jisté výhody a nevýhody. Hlavní výhodou SPE extrakce je její jednoduchost a možnost částečné automatizace. Extrakce kapalina-kapalina je v porovnání s ní pracná metoda s poměrně velkou spotřebou rozpouštědel. Z hlediska hodnocených látek, které byly předmětem této diplomové práce, je pro vlastní analýzu vhodnější rozdělit je na dvě skupiny. Pro látky N-MeFOSA a N-EtFOSA je výhodnější extrakce kapalina-kapalina, protože výsledky dosažené touto technikou jsou hodnotnější, než je tomu v případě SPE. Z dosud provedených analýz vyplývá, že optimální je použít postup uvedený v kapitole 4.1.4 se 200 ml vzorku vody, protože lze dosáhnout výtěžnosti extrakce kolem 100%. Pro větší objem vzorku, který v této práci představoval použití 2x500 ml vody, nebyl postup už tak vhodný, jelikož výtěžnost extrakce se pohybovala pouze kolem 40%. Nicméně musíme si uvědomit, že v reálných vzorcích je předpokládané množství perfluorovaných sloučenin velice malé a proto bude nutné použít větší množství vzorku, a to i za cenu nižší výtěžnosti extrakce. Naopak SPE extrakce je pro tyto látky méně vhodná z důvodu nízkých výtěžností extrakcí; k analýze reálných vzorků je takřka nemožné SPE extrakci použít.

Naopak pro perfluorovanou sloučeninu PFOSA je lepší použít SPE, u které byla vypočtená výtěžnost přijatelná, činila 74%. Extrakce PFOSA pomocí LLE je problematická především proto, že výsledky získané z 200 ml vzorku vody byly z dosud nejasných příčin značně nadhodnocené a dosud zjištěné poznatky nám neumožňují je rozumně interpretovat.



Obrázek 13 Porovnání extrakčních technik.

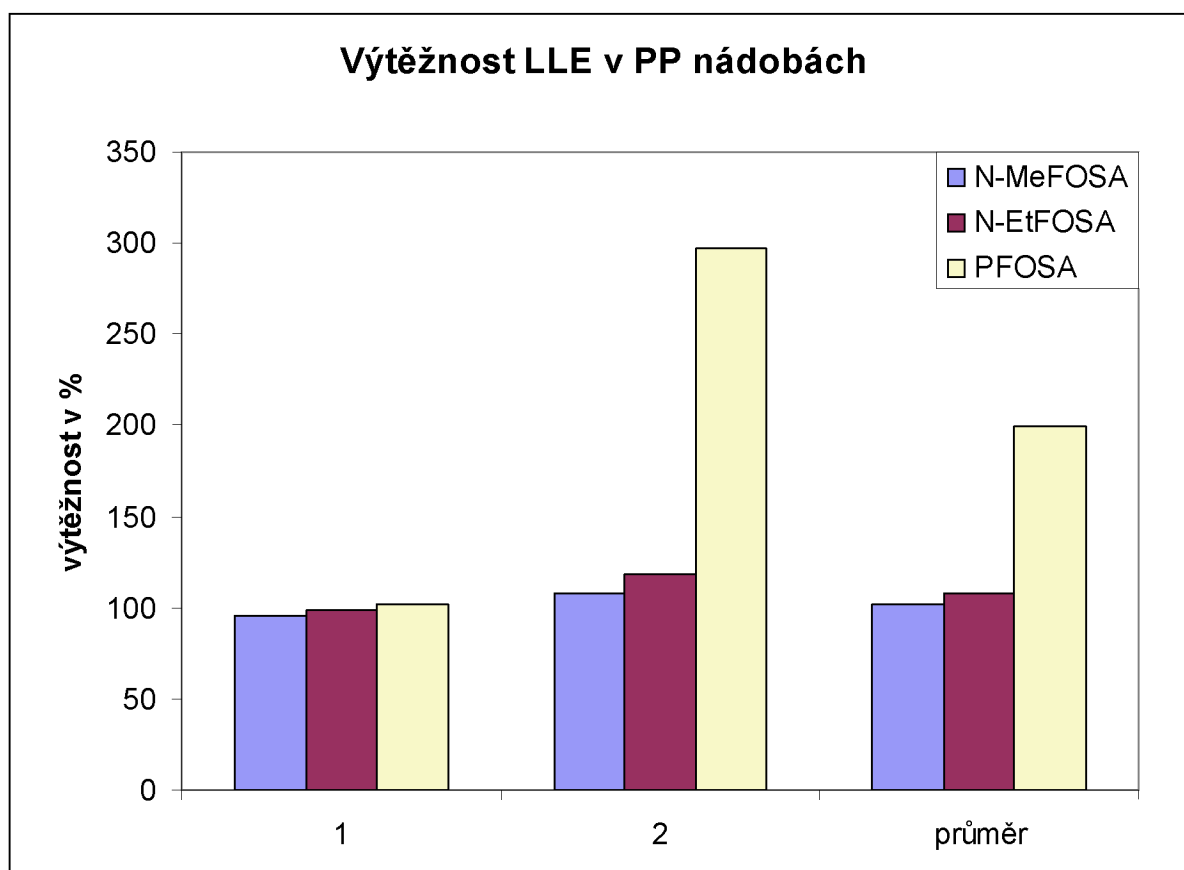
5.6 Možná adsorbce PFAS na sklo

V průběhu provádění experimentů se vyskytlo podezření na sorpci analytů na sklo, především při ponechání extraktu ve skleněných vialkách. Proto byla vytvořena kalibrační řada, která byla připravena v polypropylenových vialkách. Následně byla vyzkoušena LLE do MTBE, při které bylo pracováno s nádobami z polypropylenu. V pracovním postupu byla však použita dělicí nálevka ze skla, jelikož tu se nepodařilo nahradit polypropylenovým materiálem. Z důvodů malého množství standardu byla extrakce provedena pouze 2x, a to postupem uvedeným v kapitole 4.1.4; pro tyto experimenty bylo použito 200 ml spikované vody.

Naměřené hodnoty i v tomto případě potvrdily, že výtěžnost pro látky N-MeFOSA a N-EtFOSA se pohybovala u obou vzorků kolem 100%. Analyt PFOSA opět vykazoval extrémně vysokou odezvu, pouze však u vzorku 2; kromě toho zjištěné hodnoty vykazovaly větší variabilitu. PFOSA patří mezi velmi těkavé sloučeniny, což způsobovalo určité obtíže i při sestrojování kalibrační přímk. I tato část metodiky musí být ověřena na velkém souboru experimentů, protože je snahou pracoviště validovat veškeré používané metody. Současně bylo zjištěno, že i když byly extrakty ponechány přes noc v polypropylenových vialkách, nedošlo k úbytku analytů ve vzorku, tak jak tomu bylo v případě skleněných vialek. Na základě zhodnocení tohoto experimentu můžeme předpokládat, že pro práci s těmito látkami je vhodnější pracovat v polypropylenových nádobách. K potvrzení této skutečnosti by však bylo nezbytné provést větší počet měření, protože z takto omezeného počtu měření nemůžeme ještě učinit jednoznačný závěr o adsorbci analytů na sklo a získané poznatky mohou spíše sloužit jako vodítko pro další výzkumnou činnost v této oblasti.

Tabulka 8 *Výtěžnosti MTBE extrakce provedené v PP nádobách z 200 ml spikované vody.*

látk	vzorek 1 výtěžnost (%)	vzorek 2 výtěžnost (%)	průměr výtěžnosti (%)
N-MeFOSA	95,3	107,7	101
N-EtFOSA	98,3	118,2	108
PFOSA	101,8	297,2	199



Obrázek 14 Výtěžnost LLE v polypropylenových nádobách

5.6 Výskyt sledovaných analytů v reálných vzorcích

Výběr a charakteristika odběrových míst:

Tabulka 9 *Přehled odběrových míst*

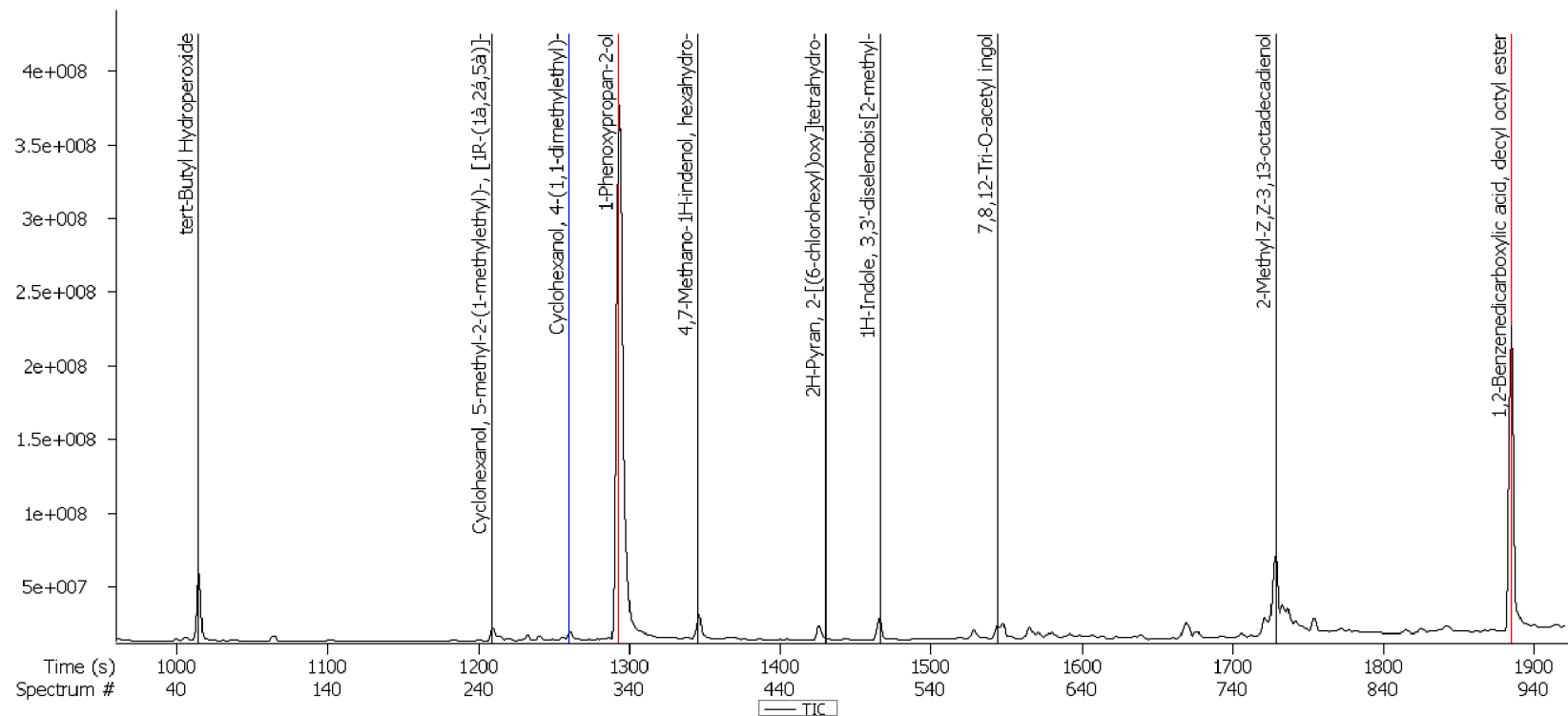
kód vzorku	lokalita	GPS pozice	popis vzorku
P1	Brněnská přehrada	49°13'44,2''N, 16°30'50,426''E	čistá povrchová voda z pravého břehu Brněnské přehrady.
ČOV-PR	čistírna odpadních vod Modřice	49°7'55,994''N, 16°37'48,19''E	voda z přítoku do ČOV Modřice
ČOV-OD	čistírna odpadních vod Modřice	49°7'29,025''N, 16°37'41,78''E	voda z odtoku z ČOV Modřice
VT-PR	čistírna odpadních vod, VFU Brno	49°13'5,083''N, 16°35'51,791''E	voda z přítoku do ČOV VFU Brno
VT-OD	čistírna odpadních vod, VFU Brno	49°13'5,083''N, 16°35'51,791''E	voda z odtoku z ČOV VFU Brno
BOJ	Sklad pneumatik, Bojkovice	49°2'12,834''N, 17°47'56,238''E	povrchová voda z blízkosti požáru pneumatik, po použití hasicích pěn

Jelikož v oblasti Brna doposud nebyla zpracována žádná podobná studie zabývající se výskytem perfluoralkylovaných látek v životním prostředí, byly vybrány náhodné vzorky povrchových a odpadních vod ve městě Brně a jeho okolí. Byla také analyzována povrchová voda odebraná v blízkosti požáru skladu pneumatik v Bojkovicích, kde se mohlo projevit použití hasicích pěn na zvýšení hladin těchto látek v povrchových vodách.

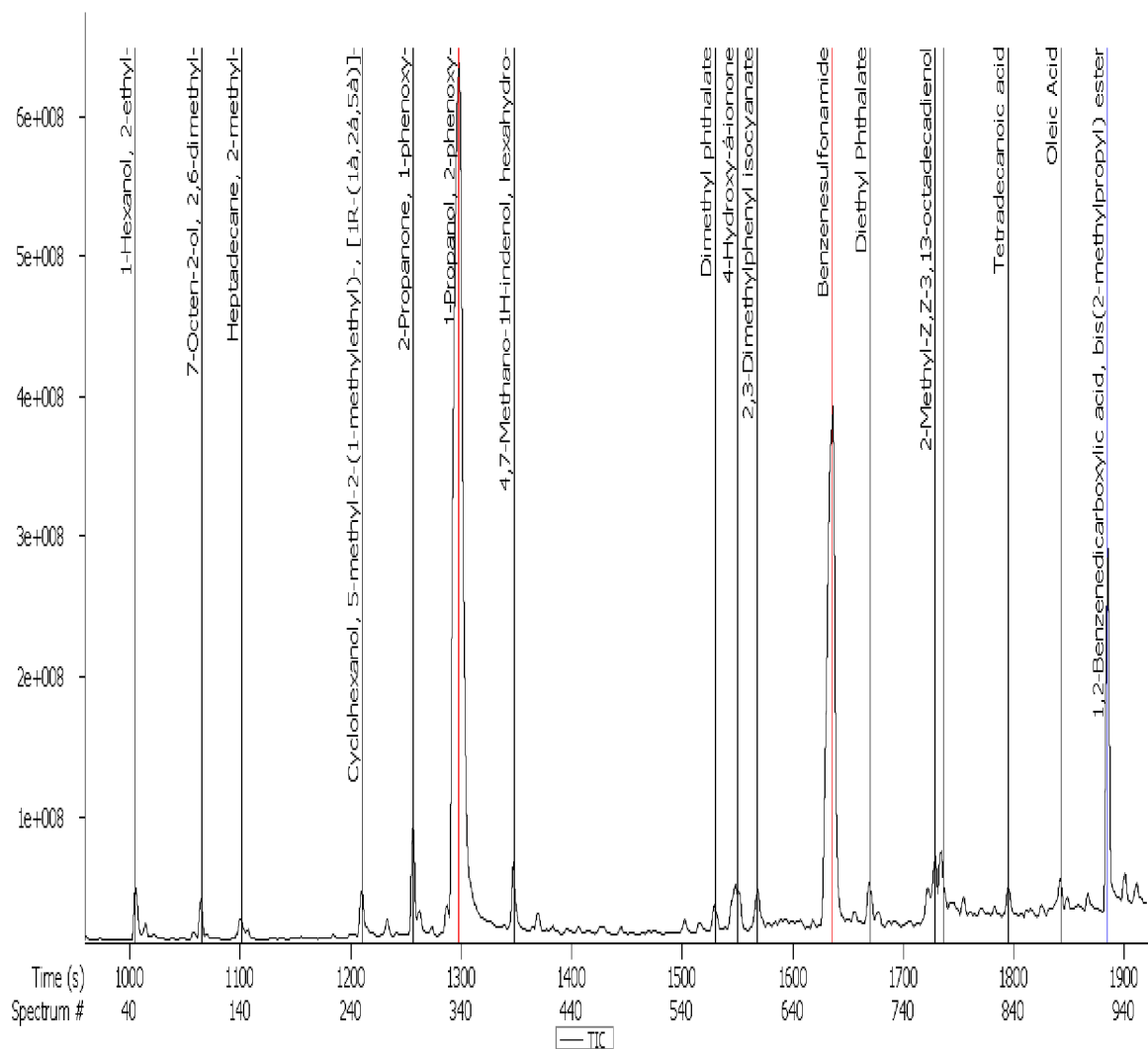
Analýza vzorků:

Analýza reálných vzorků byla provedena podle výše uvedených postupů. K jejich izolaci z matrice byla použita jak extrakce kapalina-kapalina (LLE), tak extrakce na tuhou fázi (SPE). Pro extrakci SPE byl použit optimalizovaný postup č.3 na nepolární koloně ENVITM-18 SPE Tube. Extrakce kapalina-kapalina do MTBE byla provedena postupem používajícím k analýze jeden litr vzorku vody, a to i přes nižší výtěžnost extrakcí. Vzorky byly před analýzou filtrovány přes filtrační papír ze skleněných vláken.

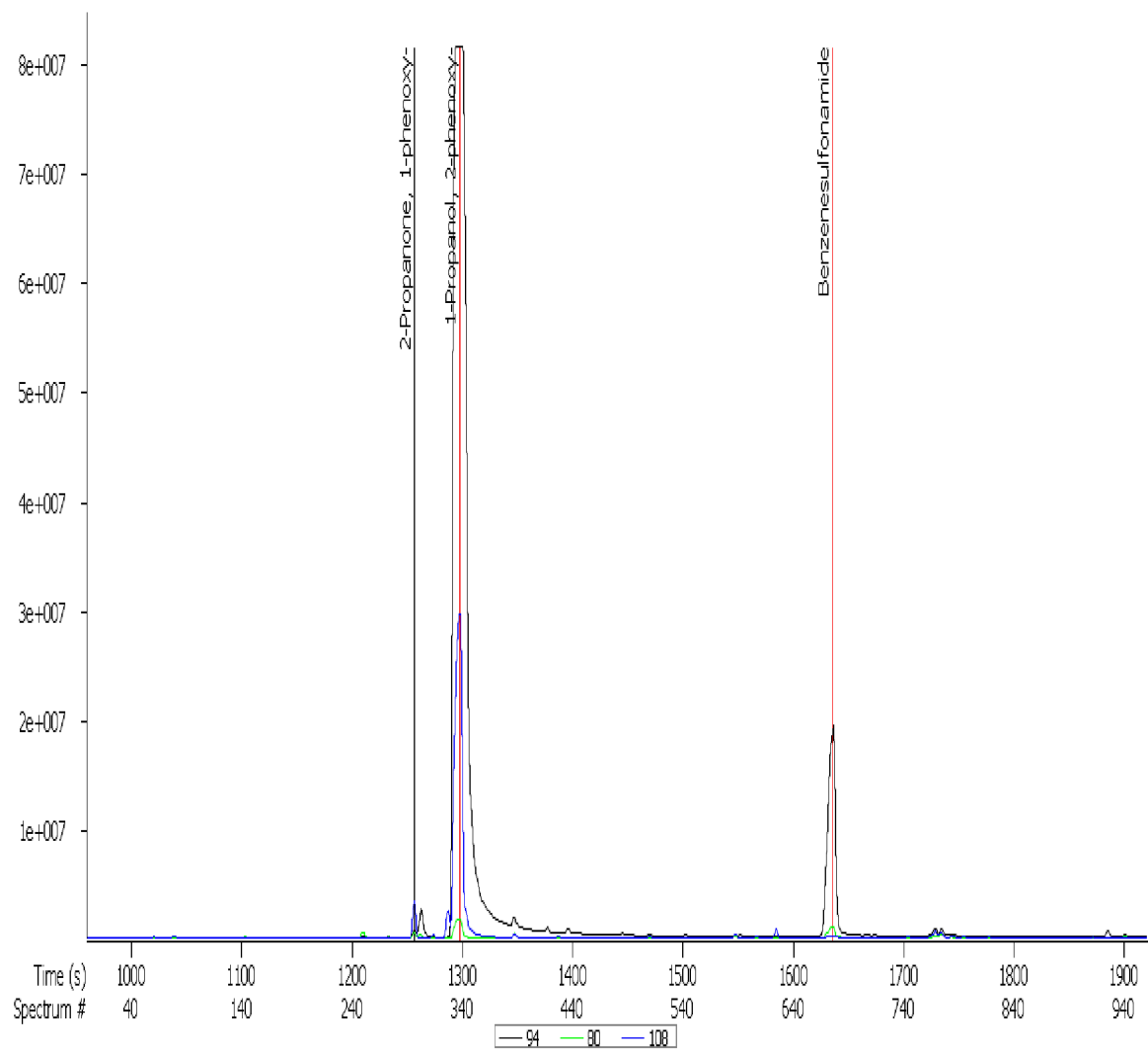
V žádném reálném vzorku nebyly detekovány látky, které byly předmětem této diplomové práce. Ve všech odebraných a analyzovaných vzorcích byly jejich koncentrace nižší, než je mez detekce této metody. Na obrázcích 14 - 29 jsou uvedeny naměřené chromatogramy a fragmentforeogramy reálných vzorků. Na základě hmotnostních spekter byly identifikovány vybrané látky v jednotlivých vzorcích.



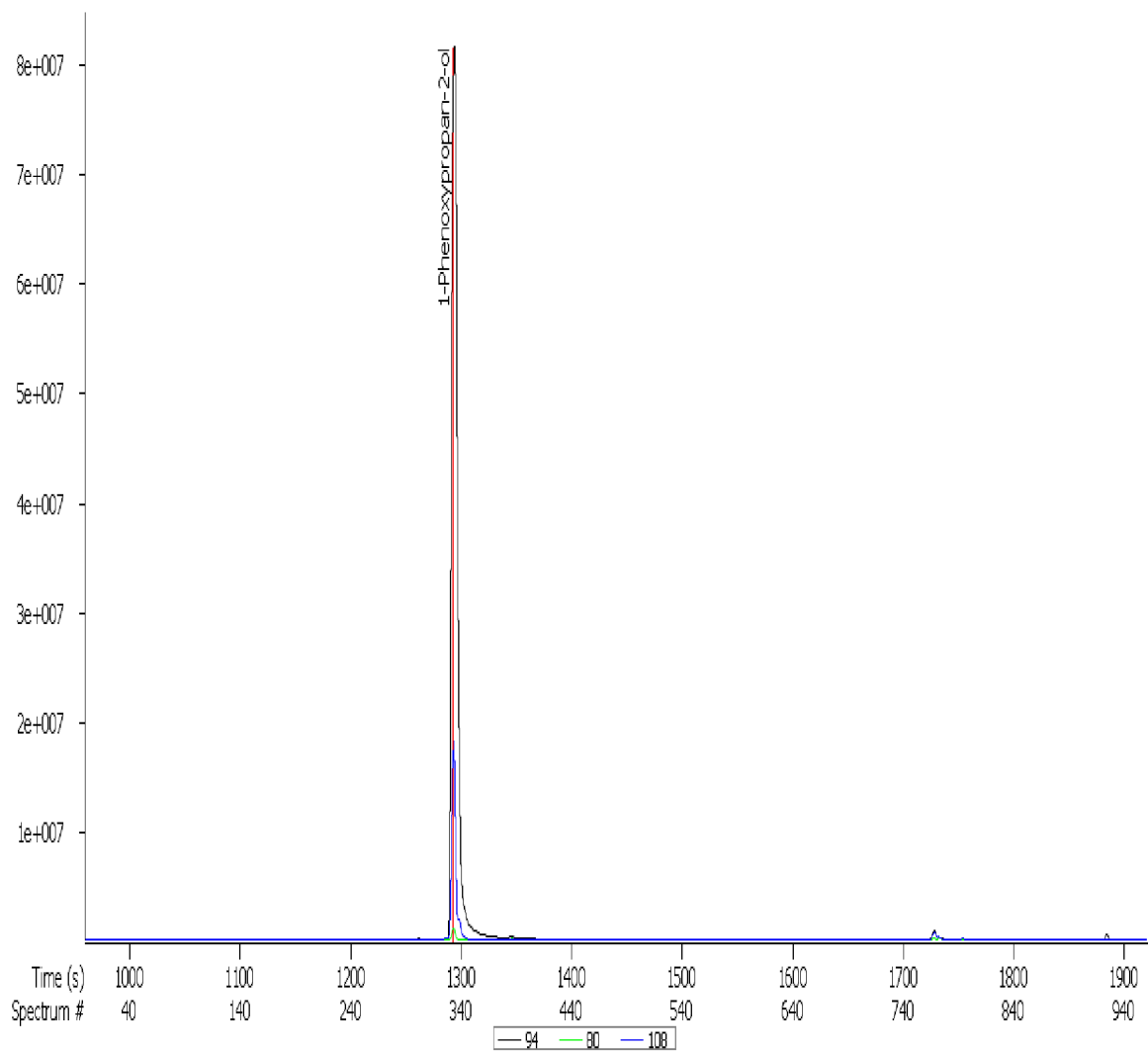
Obrázek 15 Chromatogram vzorku z přítoku do ČOV Veterinární a farmaceutické Univerzity, SPE.



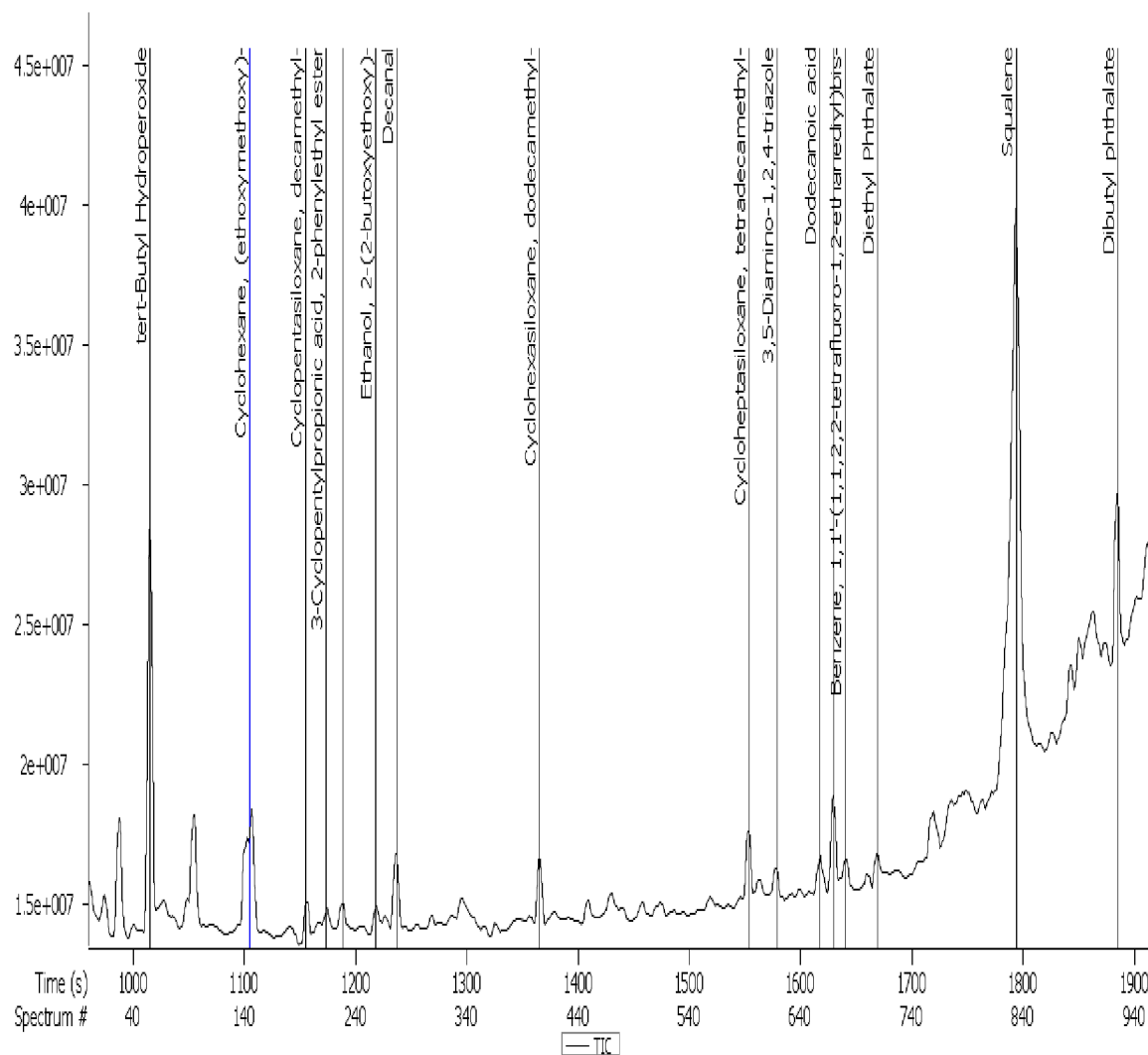
Obrázek 16 Chromatogram vzorku z průtoku do ČOV Veterinární a farmaceutické Univerzity, LLE.



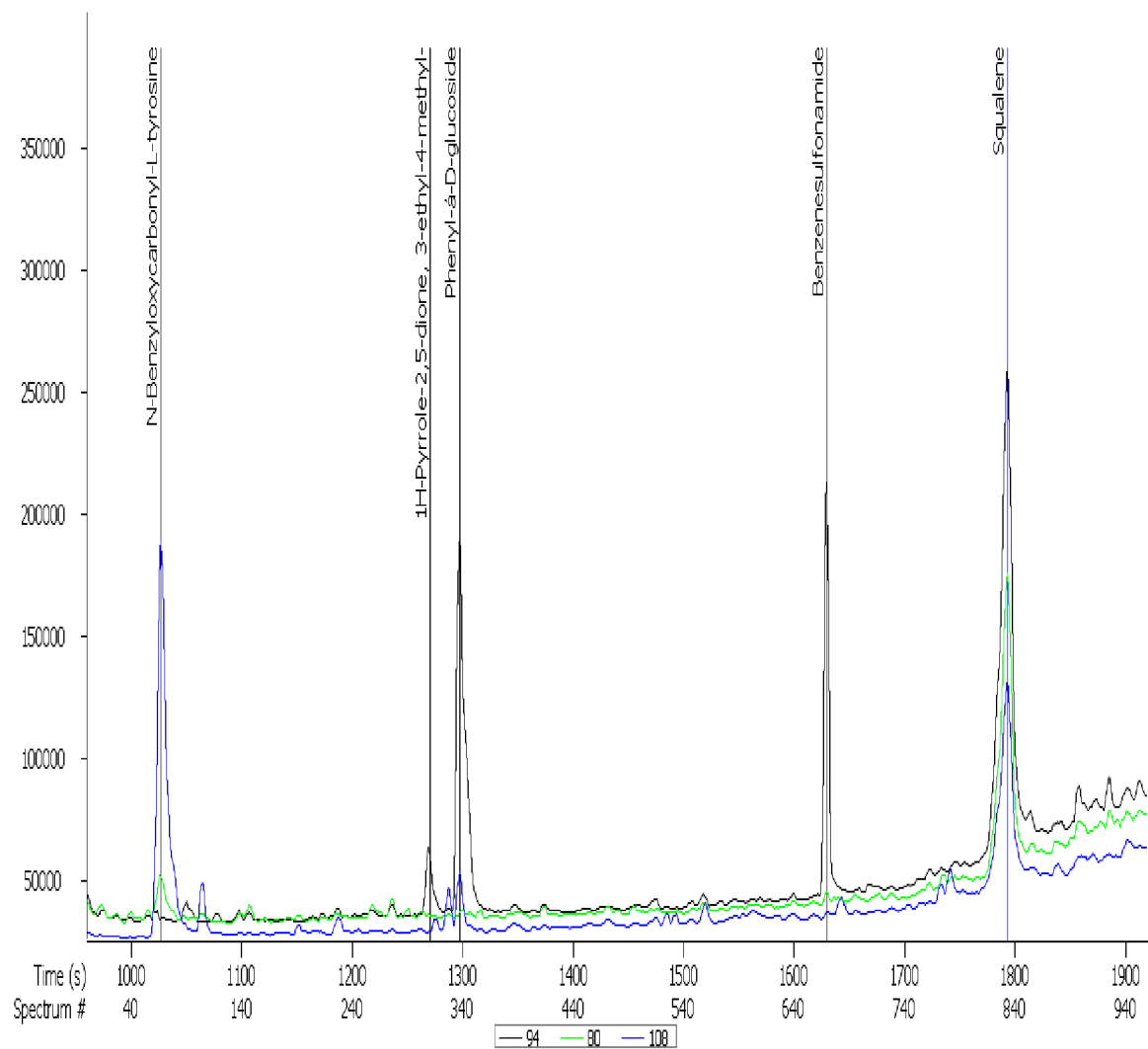
Obrázek 17 Fragmentogram vzorku z přítoku do ČOV Veterinární a farmaceutické Univerzity, LLE.



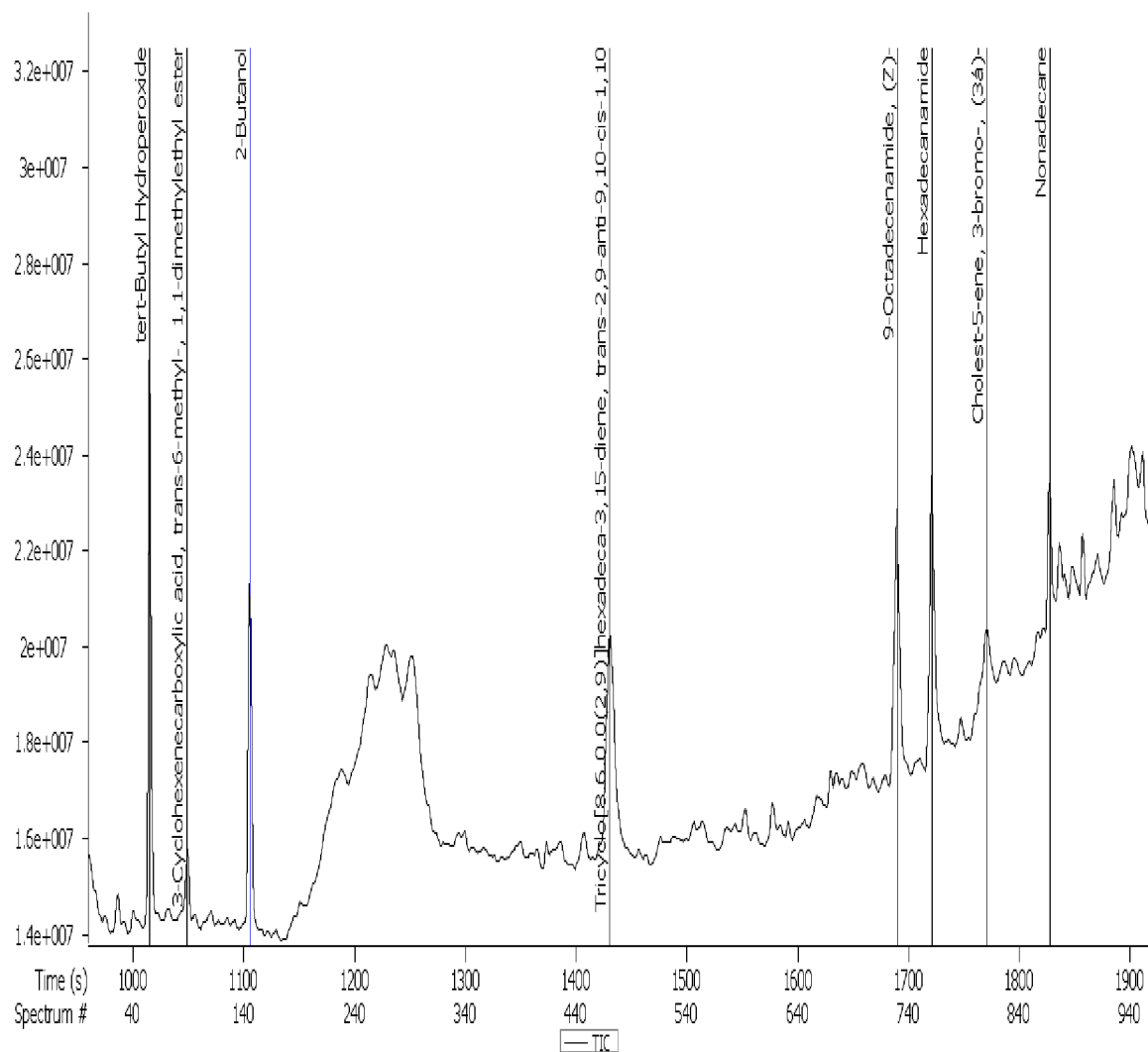
Obrázek 18 *Fragmentogram vzorku z přítoku do ČOV Veterinární a farmaceutické Univerzity, SPE.*



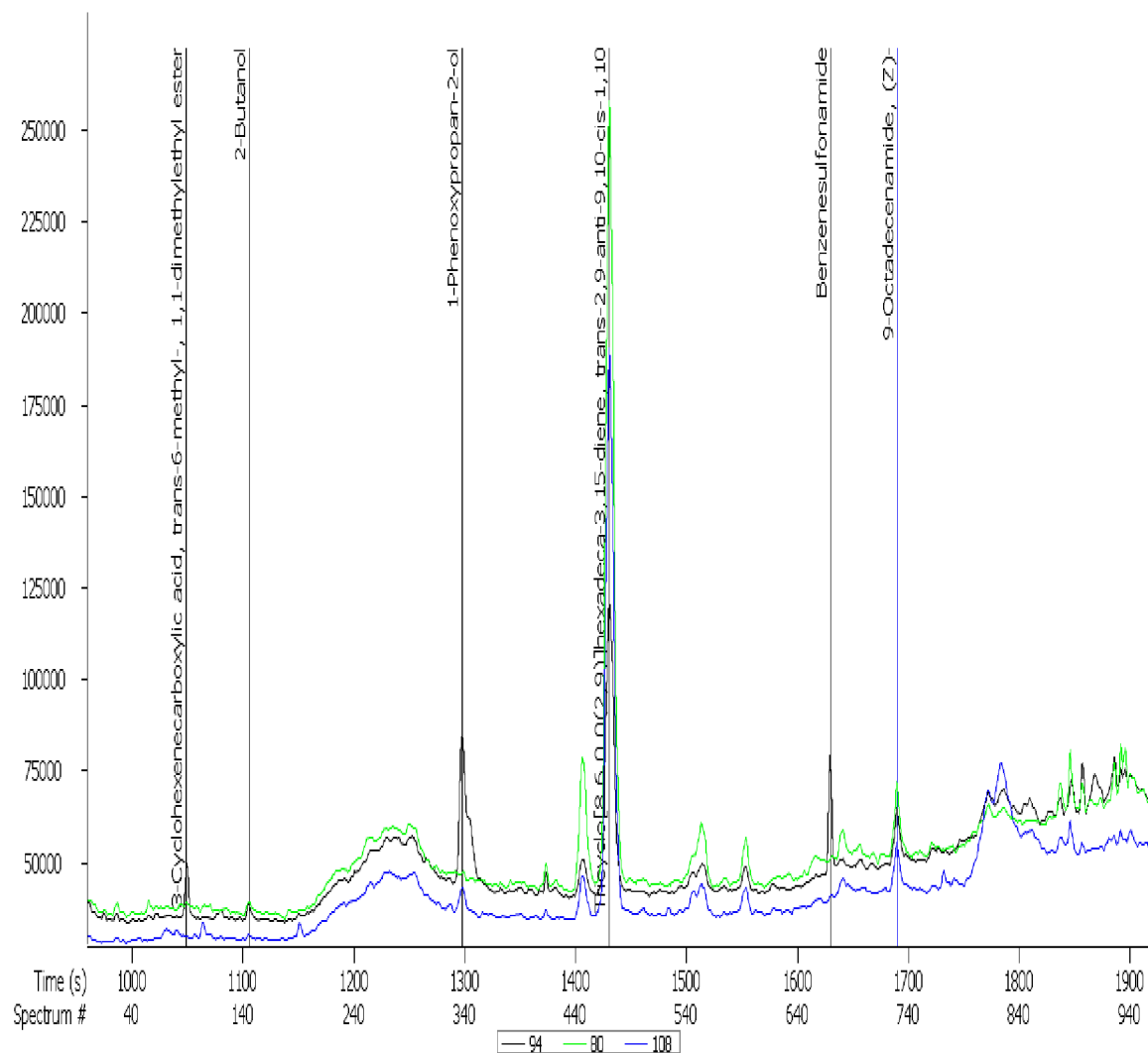
Obrázek 19 Chromatogram vzorku z Brněnské přehrady, LLE.



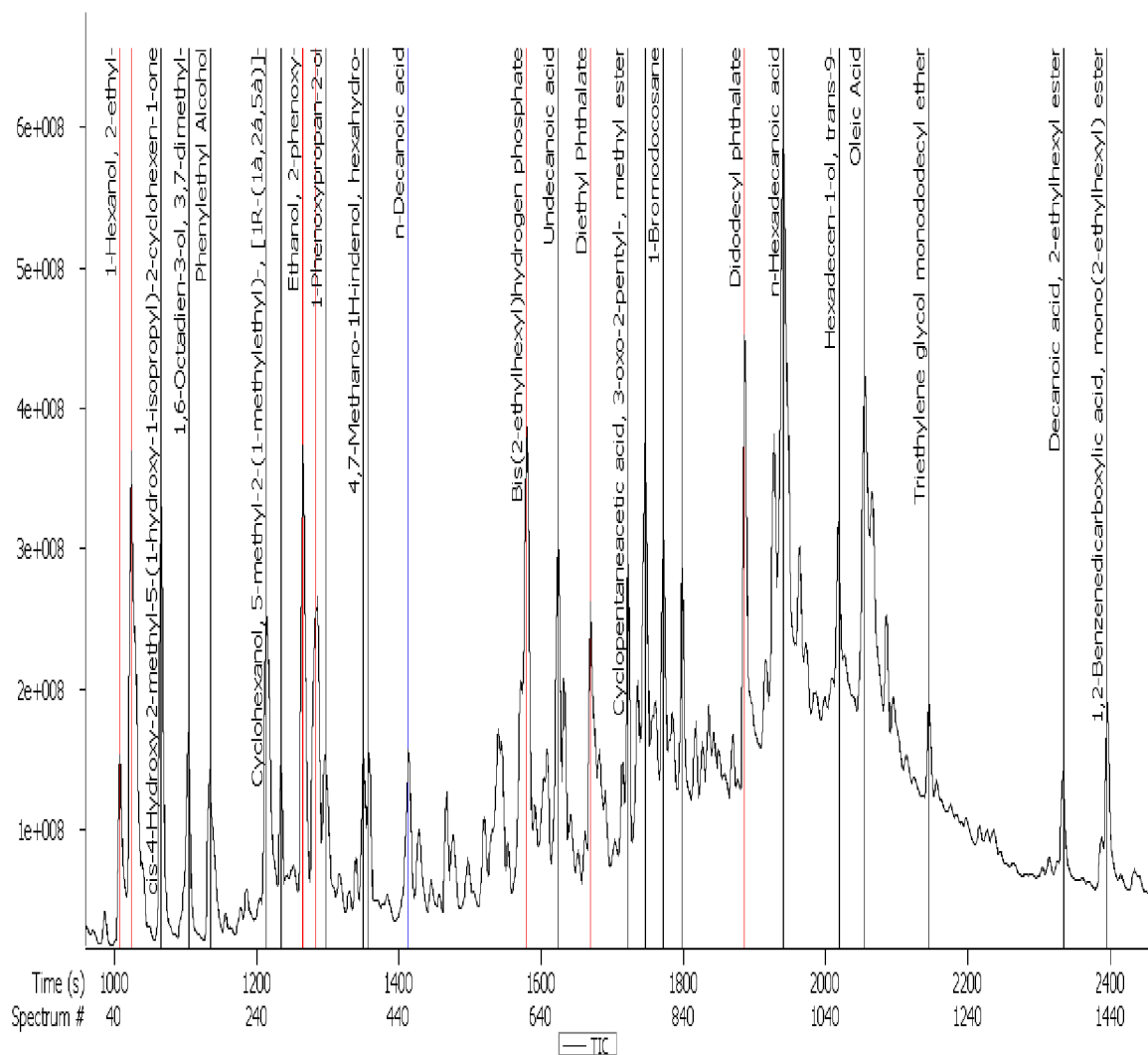
Obrázek 20 Fragmentogram vzorku z Brněnské přehrady, LLE.



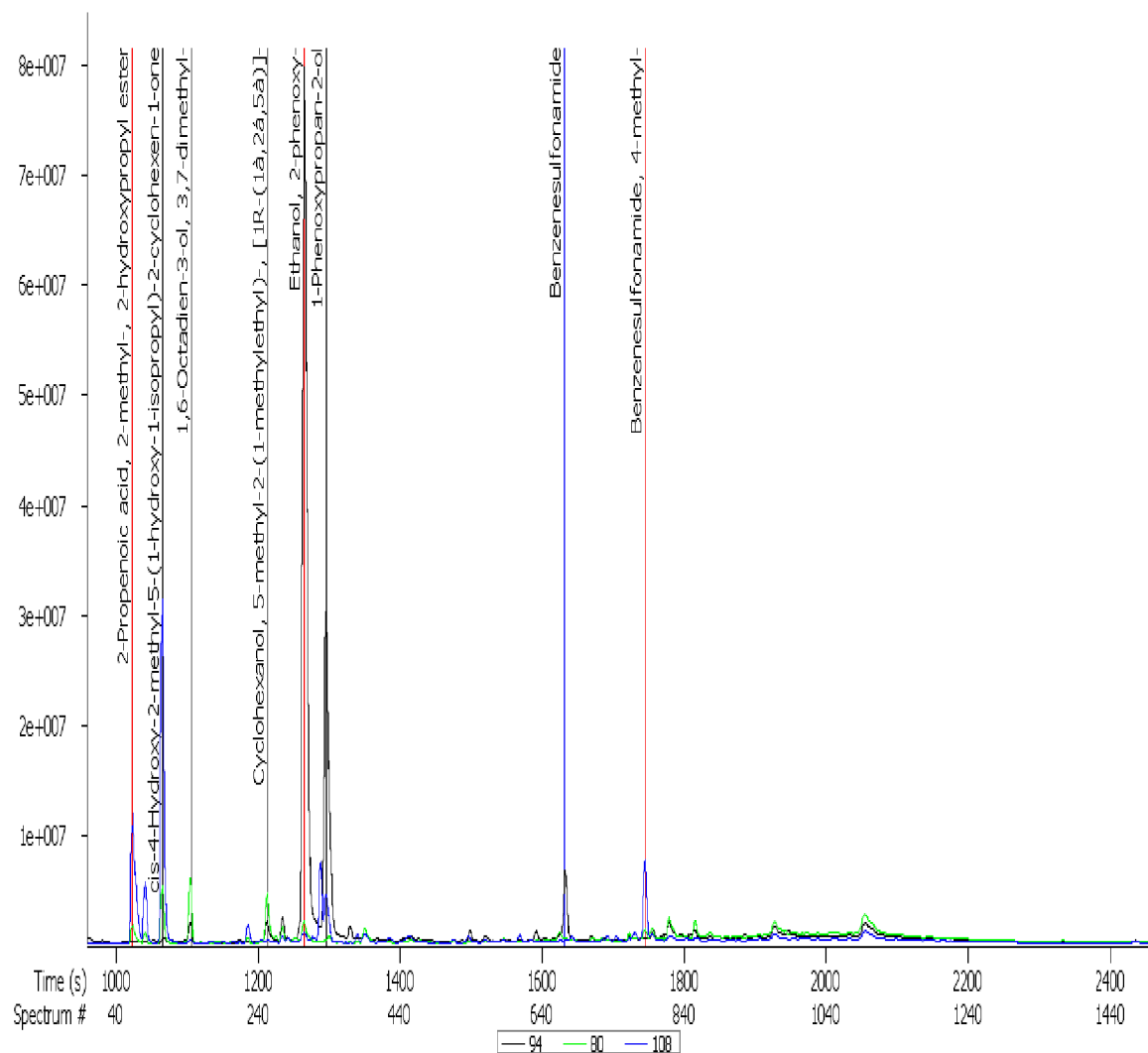
Obrázek 21 Chromatogram vzorku z Brněnské přehrady, SPE.



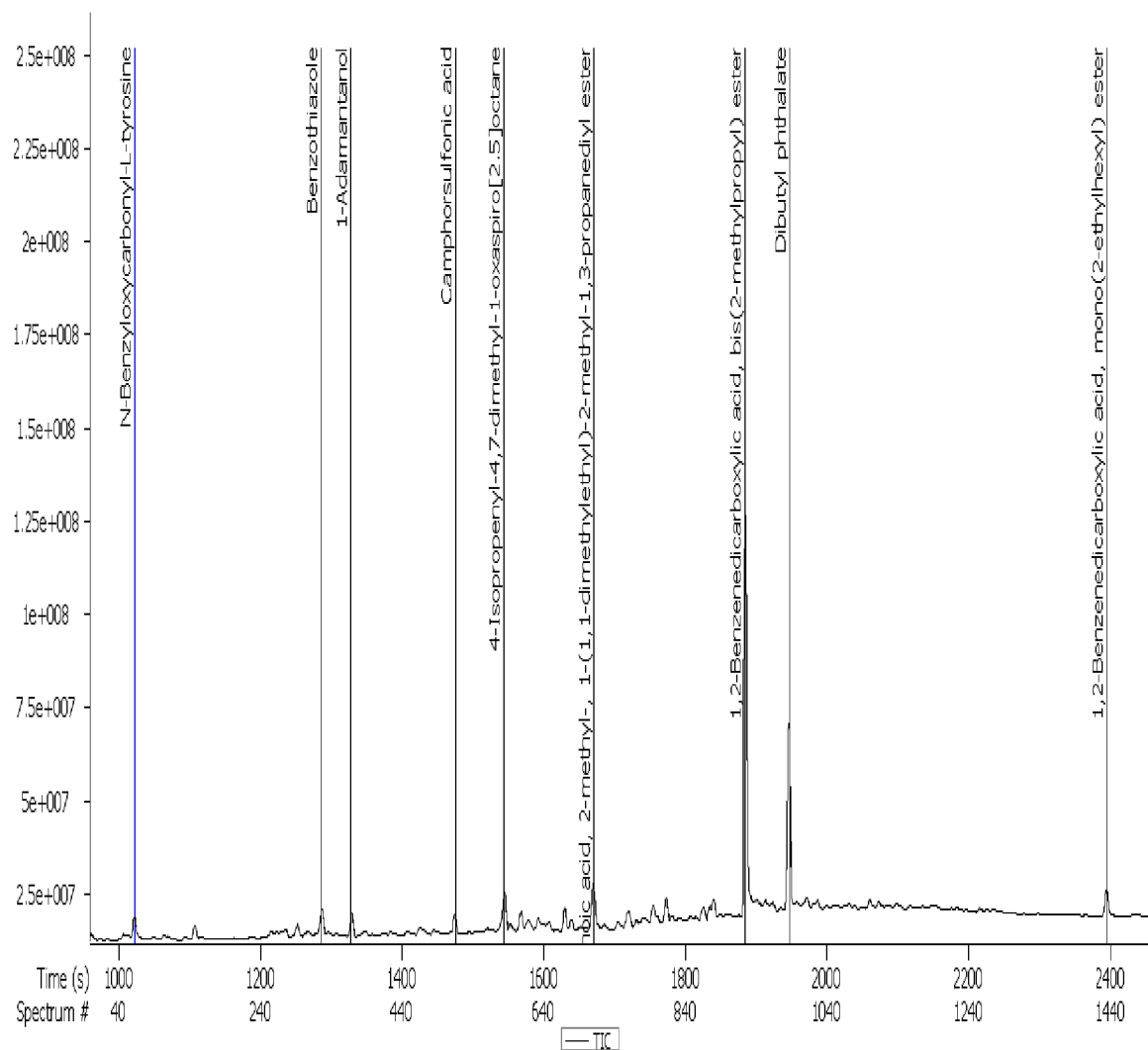
Obrázek 22 Fragmentogram vzorku z Brněnské přehrady, SPE.



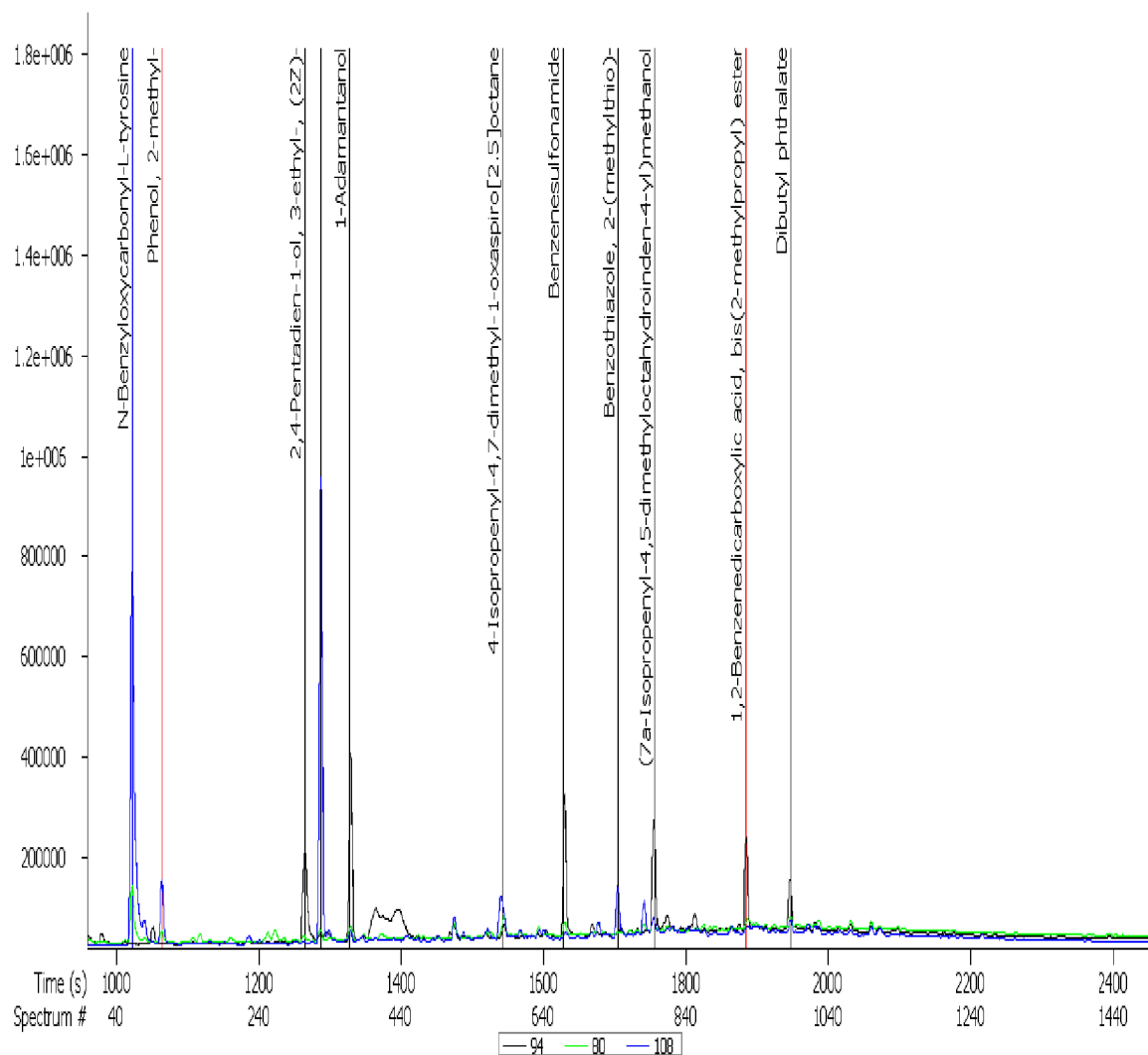
Obrázek 23 Chromatogram vzorku z přítoku do ČOV Modřice, LLE.



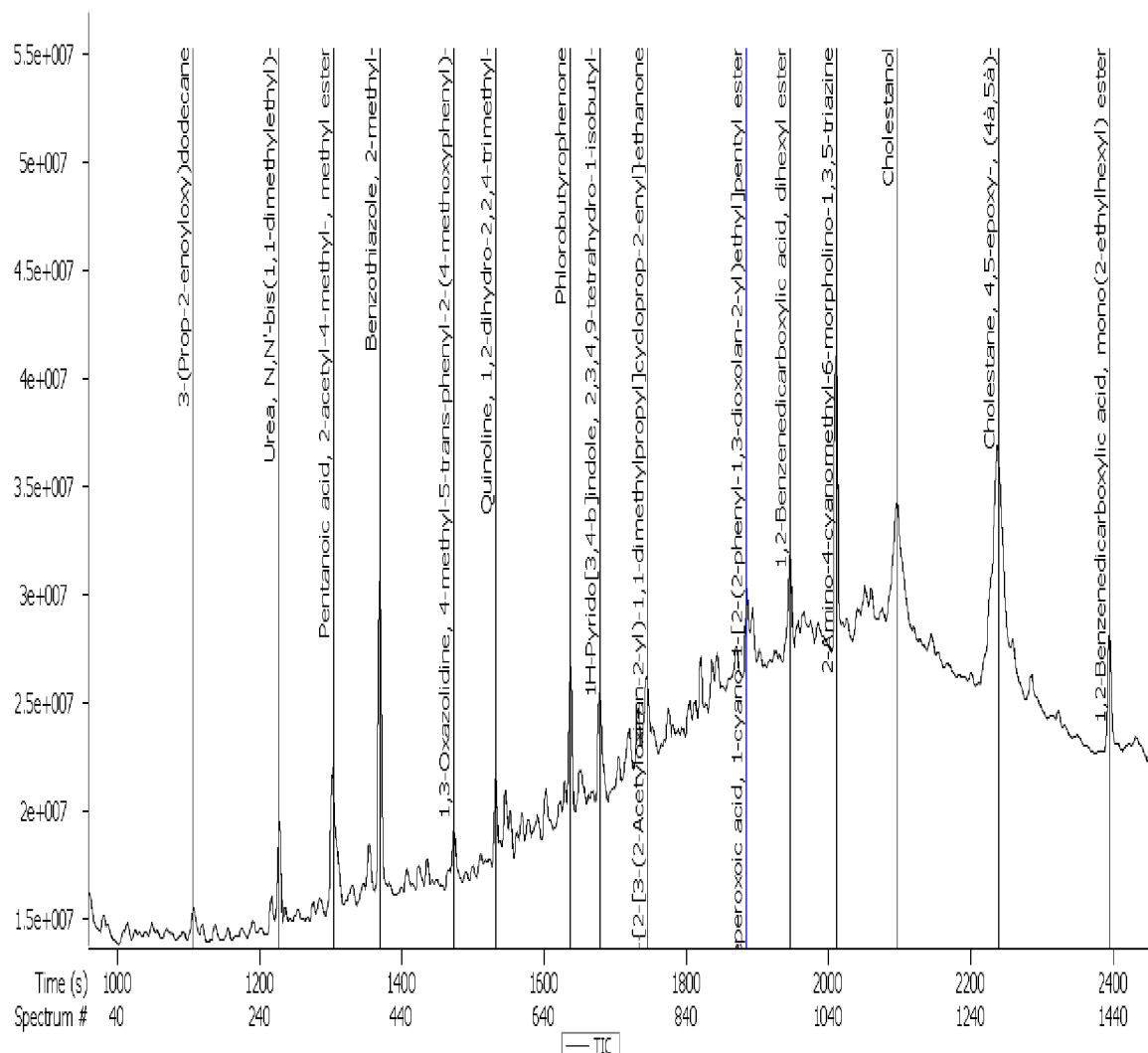
Obrázek 24 Fragmentogram vzorku z přítoku do ČOV Modřice, LLE.



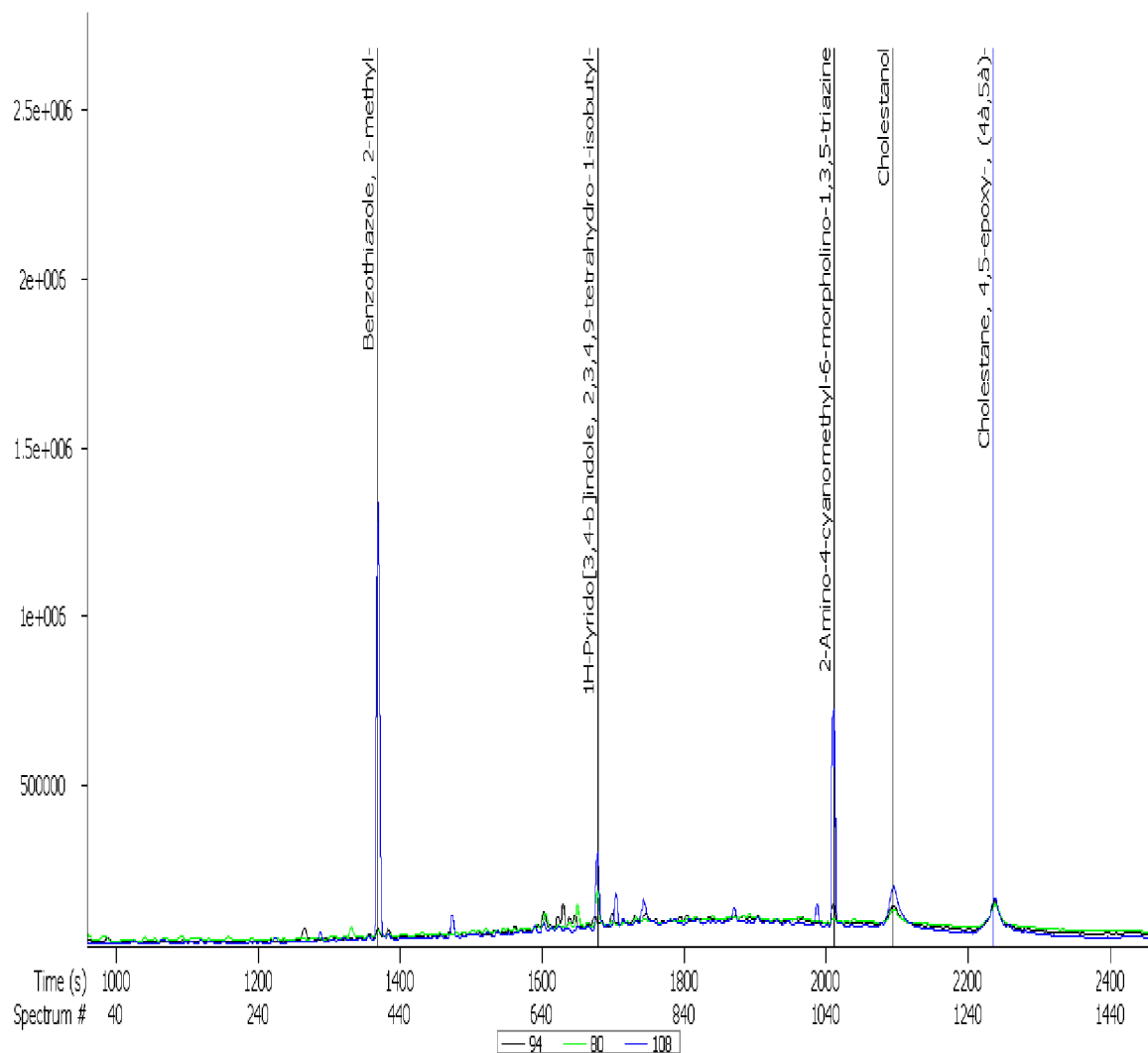
Obrázek 25 Chromatogram vzorku z odtoku z ČOV Modřice, LLE.



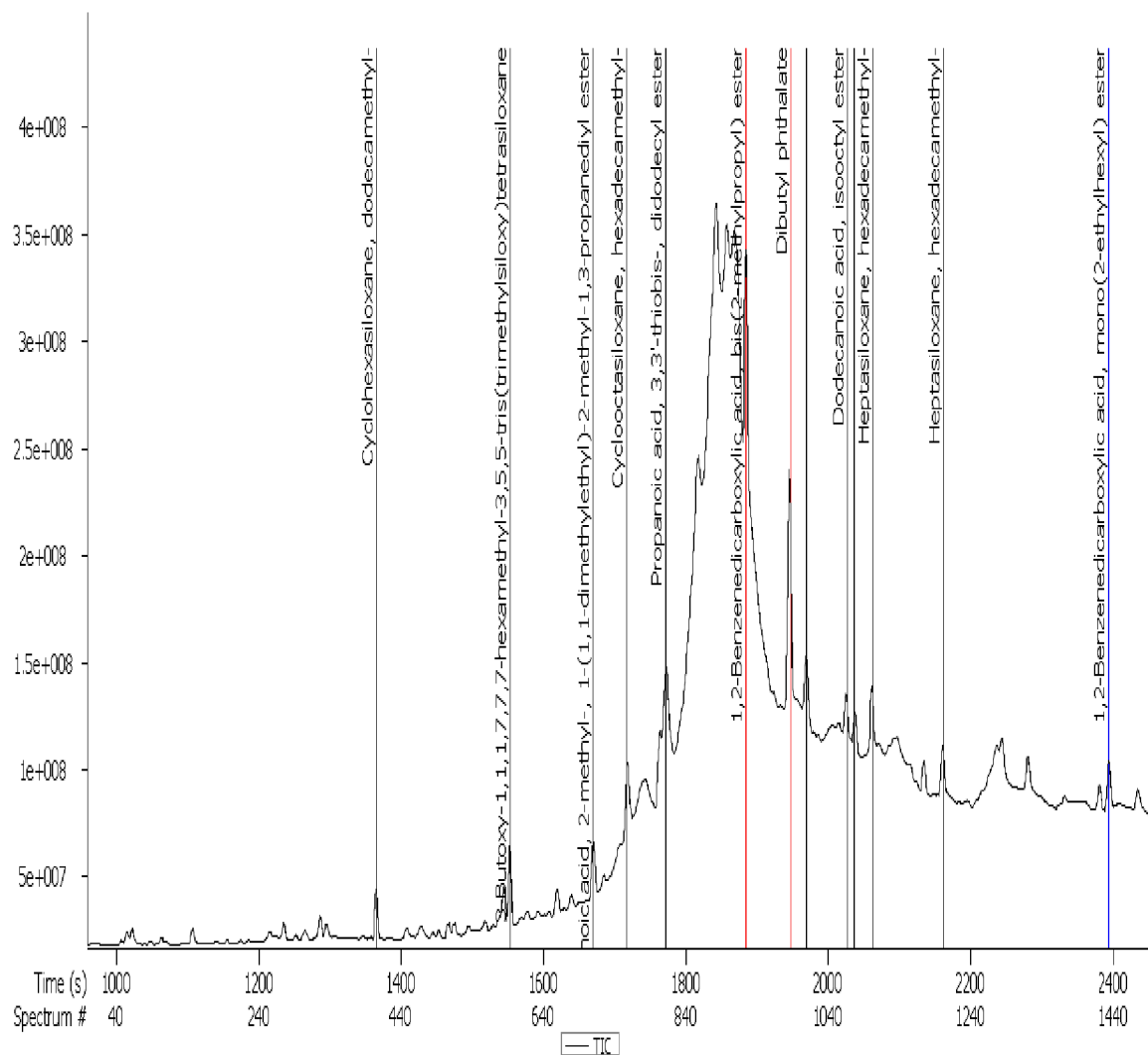
Obrázek 26 Fragmentogram vzorku z odtoku z ČOV Modřice, LLE.



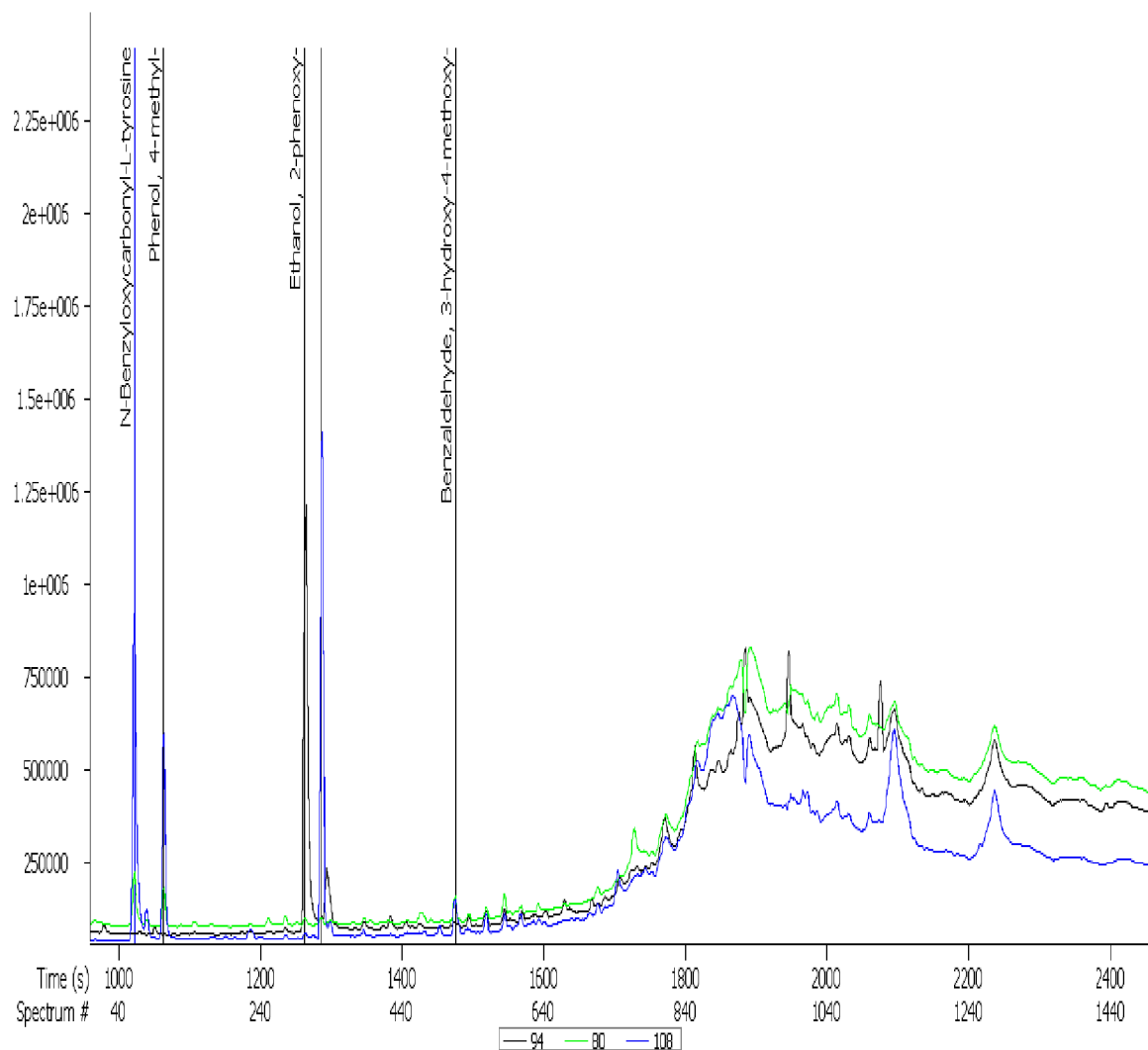
Obrázek 27 Chromatogram vzorku z Bojkovic, LLE.



Obrázek 28 Fragmentogram vzorku z Bojkovic, LLE.



Obrázek 29 Chromatogram vzorku z odtoku z ČOV Veterinární a farmaceutické Univerzity, LLE.



Obrázek 30 Fragmentogram vzorku z odtoku z ČOV Veterinární a farmaceutické univerzity, LLE

5.7 Perfluorované látky a GCxGC-TOF-MS

Pro látky N-MeFOSA, N-EtFOSA a PFOSA byly optimalizovány podmínky pro separaci ve dvourozměrné plynové chromatografii s detekcí na hmotnostním spektrometru s analyzátozem doby letu. Pro optimalizaci byla použita směs standardů o koncentraci každého z analytů 500 ng/ml v isooktanu. Optimalizované separační podmínky jsou následující:

GC parametry:

Typ a rozměr kolony	DB-5 (60m x 0,250mm x 0,25μm)
nosný plyn	helium
typ nástřiku	splitless
průtok	konstantní 1,2 ml/min
teplota inletu	250°C
teplotní program	počáteční teplota 70°C po dobu 2min, zvýšení teploty rychlostí 15°C/min na 280°C, teplota udržována 1min.
nastříkované množství	1 μl
nosný plyn	Helium 6.0
transfer line teplota	280°C

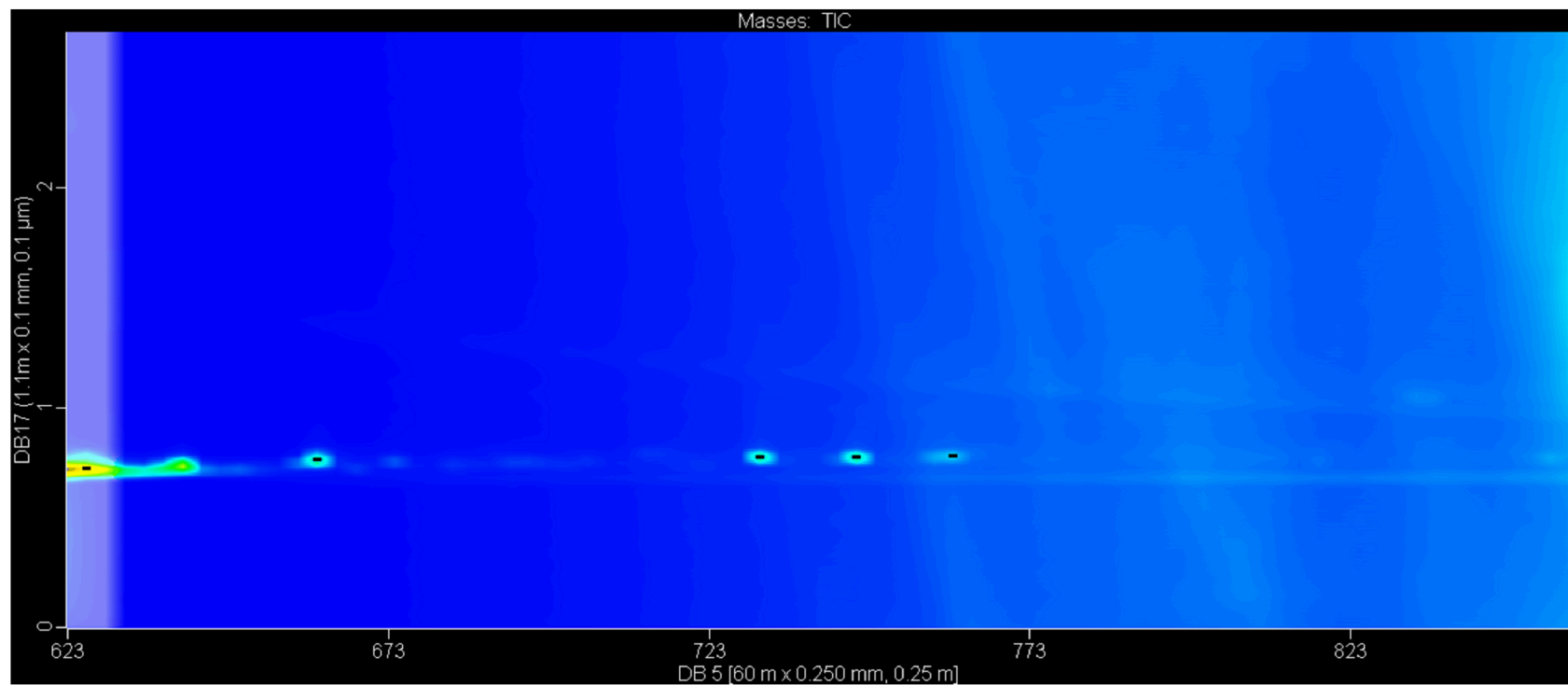
GCxGC parametry

Modulator Temperature Offset	30°C (relativ to the GC oven temperature)
Hot Pulse Time	0,8s
Cold Pulse Time	0,7s
Data Collection Rate	200
Typ sekundární kolony	DB-17 (1,1m x 0,1mm x 0,1μ)
teplotní program	počáteční teplota 75°C po dobu 2min, zvýšení teploty rychlostí 15°C/min na 285°C, teplota udržována 1min.

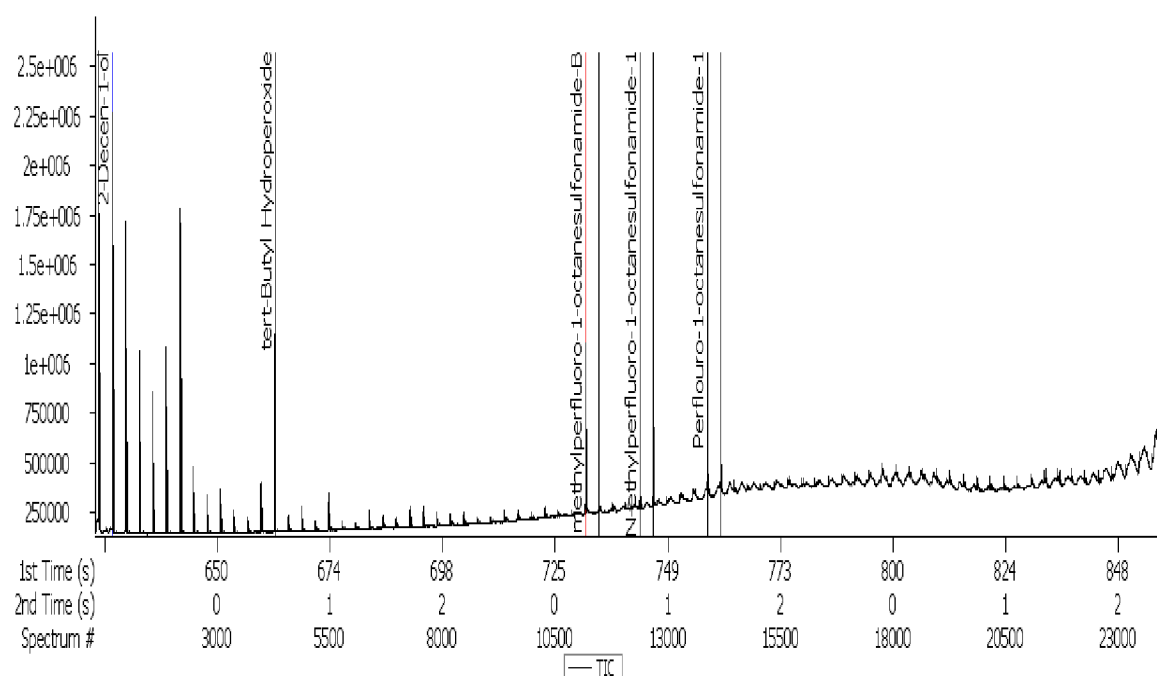
MS parametry

Start mass	50 (u)
End mass	550 (u)
Počet spekter/s	100
Napětí na detektoru	1900V
Filament Bias voltage	-70V
Teplota iontového zdroje	250°C

Dvourozměrná plynová chromatografie je technika, která má veliký potenciál v separaci celé řady analytů. V budoucnu bude jistě častěji využívána i k separaci perfluorovaných látek. Na obrázcích 31 a 32 jsou uvedeny chromatogramy standardu ve dvourozměrné plynové chromatografii.



Obrázek 31 *Chromatogram standardu o koncentraci 500 ng/ml ve dvourozměrné plynové chromatografii*



Obrázek 32 Chromatogram standardu o koncentraci 500 ng/ml ve dvourozměrné plynové chromatografii

6. ZÁVĚR

Předložená diplomová práce se zabývala vysoce aktuální problematikou perfluorovaných látek v životním prostředí. Nejprve byla vypracována obecná rešerše zahrnující výrobu a použití těchto látek, jejich únik do životního prostředí a jejich následnou distribuci v jednotlivých složkách životního prostředí, dále fyzikální, chemické, environmentální, toxikologické a ekotoxikologické vlastnosti a analytické metody použitelné pro jejich identifikaci a kvantifikaci. Stopová analýza perfluorovaných sloučenin v životním prostředí je poměrně novým a především komplikovaným problémem. Jedná se o problematiku, která je obtížněji řešitelná, než stanovení ostatních halogenovaných xenobiotik. Proto jakékoliv poznatky, které rozšíří naše znalosti, jsou velmi cenné a umožní pokračovatelům vystříhat se omylů, kterým se nelze vyhnout při zavádění nových netypických analytických postupů.

Experimentální část byla zaměřena na stopovou analýzu tří látek ze skupiny perfluorovaných sloučenin, a to N-MeFOSA, N-EtFOSA a PFOSA. Práce byla zaměřena na výběr metod extrakce, které by umožnily získání kvantitativního výtěžku těchto analytů z vody pomocí SPE a LLE. Identifikace a kvantifikace byla provedena na systému GC-TOF-MS. Jednotlivé metody extrakce byly vyzkoušeny na reálných vzorcích ze životního prostředí, a to z matrice voda. Z jednotlivých dílčích experimentů vzešly následující závěry:

- Vhodnou volbou parametrů analytického postupu lze tyto látky spolehlivě separovat a identifikovat pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Za optimální lze považovat stanovení těchto látek v režimu sledování vybraných iontů.
- Pro extrakce analytů N-MeFOSA, N-EtFOSA bylo vhodné použít extrakci kapalina-kapalina (LLE), u které lze dosáhnout hodnotných výsledků. Pro extrakci analytu PFOSA bylo účinnější použít extrakci na tuhou fázi (SPE), protože v tomto případě bylo dosaženo velmi dobré výtěžnosti extrakce; extrakce kapalina-kapalina poskytovala v případě tohoto analytu falešně pozitivní výsledky, které na podkladě dosud získaných poznatků nelze jednoznačně objasnit; za tímto účelem je nezbytné provést větší série vyšetření, a to jak na spikovaných vzorcích, tak i na reálných vzorcích se standardním přídatkem.
- V průběhu provádění experimentů se vyskytlo podezření na sorpci těchto analytů na sklo. Domněnka byla částečně potvrzena provedením jedné série experimentů s využitím polypropylenového laboratorního nádobí. Tento problém bude cílem řešení dalších diplomových a doktorských disertačních prací.

- V reálných vzorcích nebyly nalezeny detekovatelné koncentrace sledovaných látek. Ve vzorcích vody však byla identifikována řada látek, které nebyly předmětem této diplomové práce.
- Byla optimalizována metoda pro separaci analytů pomocí dvourozměrné plynové chromatografie. Jedná se o tandemovou techniku, která byla pro řešení diplomové práce použita poprvé.
- Bylo prokázáno, že tuto metodu lze použít pro separaci všech vybraných perfluorovaných sloučenin.

7. LITERATURA

- [1] VOOGT, Pim de, SÁEZ, Mónica. Analytical chemistry of perfluoralkylated substances. *Trends in Analytical Chemistry*. 2006, vol. 25, no. 4, s. 326-342.
- [2] 3M: Fluorochemical use, distribution and release overview, company sanitized version, St. Paulo, Minnesota, USA, 1999
- [3] HÁJKOVÁ, Kateřina, TOMANIOVÁ, Monika, HAJŠLOVÁ, Jana. Perfluorované perzistentní kontaminanty v potravních řetězcích. 2005
- [4] JAHNKE, A. Polyfluorinated Alkyl Substances in the Marine Atmosphere Investigation on Their Occurrence and Distribution in Coastal Region, GKSS-Forschungszentrum Geesthacht GmbH, Geesthacht, 2007
- [5] 3M: Sulfonated perfluorochemicals in the Environment: Sources, dispersion, fate and effects, St. Paul, Minnesota, USA, 2000
- [6] BROOKE, FOOTIT, NWAOGU. Environmental Risk Evaluation Report: Perfluorooctanesulphonate (PFOS), 2004
- [7] VOOGT, Pim de. et. al. Perfluorinated organic compound in European environment, 2006
- [8] BOSSI, R. et. al. Perfluoralkyl compounds in Danish wastewater treatment plants and aquatic environments, *Environmental International*, 2007
- [9] HEKSTER, F.M, VOOGT, Pim de, RIKZ Perfluoralkylated Substances - Aquatic Environmental Assessment, University of Amsterdam, 2002
- [10] HIGGINS, P. Christopher, LUTHY, G. Richard. Sorption of Perfluorinated Surfactants on Sediments. *Environmental Science & Technology*. 2006, vol. 40, no. 23, s. 7251-7256.
- [11] MOODY, A. Cheryl, FIELD, A. Jennifer. Determination of Perfluorocarboxylates in Groundwater Impacted by Fire-Fighting Activity. *Environmental Science & Technology*. 1999, vol. 33, no. 16, s. 2800-2806.
- [12] LOOS, Robert. et. al. Analysis of perfluorooctanoate (PFOA) and other perfluorinated compounds (PFCs) in the River Po watershed in N-Italy. *Chemosphere*. 2007,

- [13] SO, M.K. et. al. Perfluorinated compounds in the Pearl River and Yangtze River of China. *Chemosphere*. 2007, vol. 68, s. 285-295
- [14] YAMASHITA, Nobuyoshi, et. al, Perfluorinated acids as novel chemical tracers of global circulation of ocean waters, *Chemosphere*, 2007
- [15] ELLIS, A. David. et. al. Degradation of fluorotelomer alcohols: A likely atmospheric Source of Perfluorinated carboxylic acid. *Environmental Science & Technology*. 2004, vol. 38, no. 12, s. 3316-3321.
- [16] TSENG, Chino-Li. et. al. Analysis of perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in water and biological tissue samples by liquid chromatography–ion trap mass spektrometry. *Journal of Chromathography A*. 2006, vol. 1105, s. 119-126
- [17] ZHAO, Xiaoli. et. al. Determination of perfluorinated compounds in wastewater and river water samples by mixed hemimicelle-based solid-phase extraction before liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromathography A*. 2007, vol. 1154, s. 52-59
- [18] van LEEUWEN, S.P.J, de BOER, J. Extraction an clean up strategies for analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matricies. *Journal of Chromathography A*. 2007, vol 1153, s. 172-185
- [19] TANIYASU, Sachi. et. al. Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota. *Journal of Chromathography A*. 2005, vol. 1093, s. 89-97
- [20] SCOTT, F. Brian. et. al. Analysis of Perfluorcarboxylic Acid/Anions in Surface Waters and Precipitation Using GC-MS and Analysis of PFOA from Large- Volume Samples. *Environmental Science & Technology*. 2006, vol. 40, no. 20, s. 6405-6410
- [21] HIGGINS, P. Christpher. et. al. Quantitative determination of perfluorochemicals in sediment and domestic sludge *Environmental Science & Technology*. 2005, vol. 39, no. 11, s. 3946-3956
- [22] POWLEY, R. Charles. et. al. Matrix-effect free analytical method for determination of carboxylic acid in Environmental Matrixes. *Analytical Chamistry*. 2005, vol. 77, no. 19, s. 6353-6358

- [23] SCHRODER, Horst Fr, Determination of fluorinated surfactants and their metabolites in sewage sludge samples by liquid chromatography with mass spectrometry and tandem mass spectrometry after pressurised liquid extraction and separation on fluorine-modified reversed-phase sorbents, *Journal of Chromathography A*. 2003, s. 131-151
- [24] BOSSI, Rossana. et. al. Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands. *Environmental pollution*. 2005, vol. 136, s. 323-329
- [25] ERICSON, Ingrid. et. al. Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: A pilot study. *Environment International*. 2007, vol. 33, s. 616-623
- [26] KUDO, Naomi, BANDAI, Naoki, KAWASHIMA Yoichi. Determination of perfluorocarboxylic acid by gas-liquid chromatography in rat tissues. *Toxicology Letters*. 1998, vol. 99, s. 183-190
- [27] JAHNKE, Anika. et. al. Development and application of a simplified sampling method for volatile polyfluorinated alkyl substances in indoor and environmental air. *Journal of Chromathography A*. 2007, vol. 1164, s. 1-9
- [28] WASHINGTON, W. John. Analysis of perfluorinated carboxylic acids in soils: Detection and quantitation issues at low concentrations. *Journal of Chromathography A*. 2007, vol. 1154, s. 111-120
- [29] MARTIN, W. Jonathan. et. al. Collection of Airborne Fluorinated Organics and Analysis by Gas Chromatography/Chemical Ionization Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2002, vol. 74, no. 3, s. 584-590
- [30] SZOSTEK, Bohdan, PRICKETT, B. Keith. Determination of 8:2 fluorotelomer alcohol in animal plasma and tissues by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromathography B*. 2004, vol. 813, s. 313-321
- [31] TITTELMIER, A. Sheryl. et. al. Development and characterization of a solvent extraction–gas chromatographic/mass spectrometric method for the analysis of perfluorooctanesulfonamide compounds in solid matrices. *Journal of Chromathography A*. 2005, vol. 1066, s. 189-195
- [32] WÓJCIK, Lena. et. al. Separation and determination of perfluorinated carboxylic acids using capillary zone electrophoresis with indirect photometric detection *Journal of Chromathography A*. 2006, vol. 1128, s. 290-297

- [33] LANGE, F.T, SCHMIDT, C, BRAUCH, H.-J, Perfluorocarboxylates and Sulfonates, Emerging Contaminants for Drinking Water Supplies, Association of RiverWaterworks, 2006, ISBN 90-6683-116-2
- [34] DAUWE, Tom. et. al. PFOS levels in the blood and liver of a small insectivorous songbird near a fluorochemical plant. *Environment International*. 2007, vol. 33, s. 357-361
- [35] HITES, R.A., et al. *Persistent Organic Pollutants in The Great Lakes*. 5th edition. Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 2005. 449. ISBN 3-540-29168-7.
- [36] OLSEN, W. Geary. et. al. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environmental Health Perspectives*. 2007, vol. 115, no. 9, s. 1298-1305
- [37] BUTENHOFF, John. et. al. Toxicity of Ammonium Perfluorooctanoate in Male Cynomolgus Monkeys after Oral Dosing for 6 Months. *Toxicological Sciences*. 2002, vol. 69, s. 244-257
- [38] KUDO, Naomi. et. al. Alterations by perfluorooctanoic acid of glycerolipid metabolism in rat liver. *Chenico-Biological Interactions*. 1999, vol. 118, s. 69-83
- [39] INOUE, Kiochi. et. al. Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Related Perfluorinated Compounds in Human Maternal and Cord Blood Samples: Assessment of PFOS Exposure in a Susceptible Population during Pregnancy. *Environmental Health Perspectives*. 2004, vol. 112, no. 11, s. 1204-1207
- [40] SEACAT, M. Andrew. et. al. Subchronic Toxicity Studies on Perfluorooctanesulfonate Potassium Salt in Cynomolgus Monkeys. *Toxicological Sciences*. 2002, vol. 68, s. 249-264
- [41] KUDO, Naomi. et. al. Sex hormone-regulated renal transport of perfluorooctanoic acid. *Chenico-Biological Interactions*. 2002, vol. 139, s. 301-316
- [42] BERTHIAUME, Jessica, WALLACE, B. Kendall Perfluorooctanoate, perfluorooctanesulfonate, and *N*-ethyl perfluorooctanesulfonamido ethanol; peroxisome proliferation and mitochondrial biogenesis. *Toxicology Letters*. 2002, vol. 129, s. 23-32

- [43] MARTIN, W. Jonathan. et. al. Metabolic products and pathways of fluorotelomer alcohols in isolated rat hepatocytes. *Chenico-Biological Interactions*. 2005, vol. 155, s. 165-180
- [44] The Society of the Plastic Industry, Detecting and quantifying low levels of fluoropolymer polymerization aid, 2003
- [45] KANNAN, Kurunthachalam, et. al, Accumulation of PerfluorooctaneSulfonate in Marine Mammals, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, vol. 35, s. 1593-1598

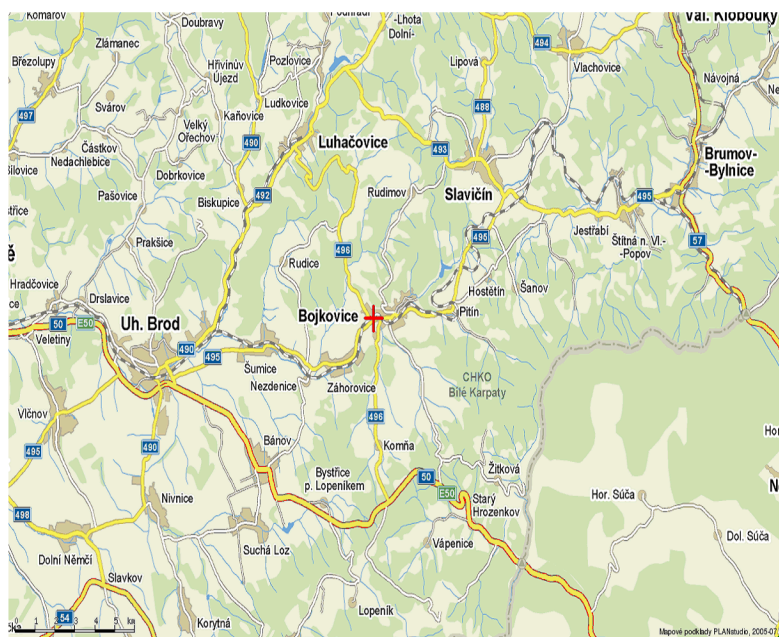
8. SEZNAM ZKRATEK

APCI	atmospheric pressure chemical ionization (chemická ionizace za atm. tlaku)
ASE	Accelerated Solvent Extraction (zrychlená extrakce rozpouštědlem)
CZE	capillary zone electroforesis (kapilární elektroforéza)
ČOV	čistírna odpadních vod
DMF	dimethylformamid
ECD	electron capture detector (detektor elektronového záchytu)
ESI(-)	elektrospray ionization in negative mode (ionizace elektrosprejem v negativním modu)
EtOAc	ethylacetát
FID	flame ionization detector (plamenově ionizační detektor)
HRGC	high resolution gas chromatography (vysokorozlišovací plynová chromatografie)
K _{ow}	rozdělovací koeficient oktanol-voda
LC	liquide chromatography (kapalinová chromatografie)
LD ₅₀	střední letální dávka, smrtelná dávka látky pro 50 % testovaných živočichů
LLE	liquide liquide extraction (extrakce kapalina-kapalina)
LOD	nejmenší detekovatelná koncentrace
LOQ	nejnižší kvantifikovatelná koncentrace
LSE	liquid-solid extraction (extrakce kapalinou)
MD	mez detekce
Mr	relativní molekulová hmotnost
MS	mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie)
MS	mez stanovitelnosti
MTBE	<i>tert</i> -butyl methyl eter
NCI	negative chemical ionization (negativní chemická ionizace)
NMR	nukleární magnetická rezonance
OECD	organization for economic co-operation and development
PCB	polychlorované bifenyly
PCI	pozitive chemical ionization (pozitivní chemická ionizace)
PE	polyethylen
PFASs	perfluoralkylated substances (perfluoroalkylované sloučeniny)
PFCs	perfluorované sloučeniny
PFCA	perfluorocarboxylic acid (perfluorokarboxylové kyseliny)
PFOS	perfluorooctansulfonát
PLE	presuris liquide extraction
POP	perzistentní organické polutanty
PP	polypropylen
ppm	parts per milion (10 ⁻⁶), jedna miliontina celku např. mg.kg ⁻¹
SAX	strong anion exchanger (silný aniontoměnič)
SPE	solid phase extraction (extrakce na tuhou fázi)

SPME	solid phase microextraction (mikroextrakce na tuhou fázi)
U.S. EPA	United States Environmental Protect Agency (Agentura pro ochranu životního prostředí, USA)
VFU	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
WAX	weak anion exchanger (slabý aniontoměnič)

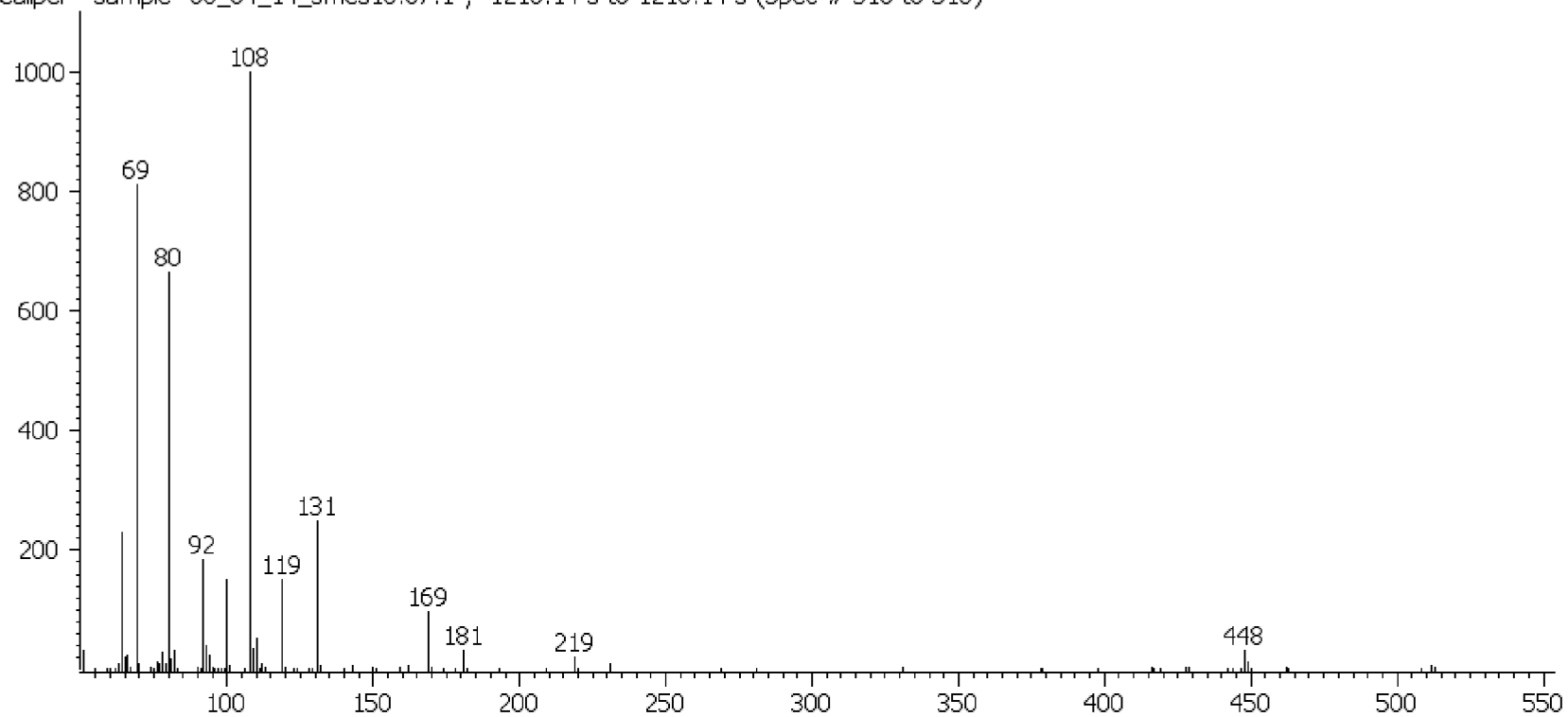
9. PŘÍLOHY

Příloha I. Lokalizace odběrových míst:



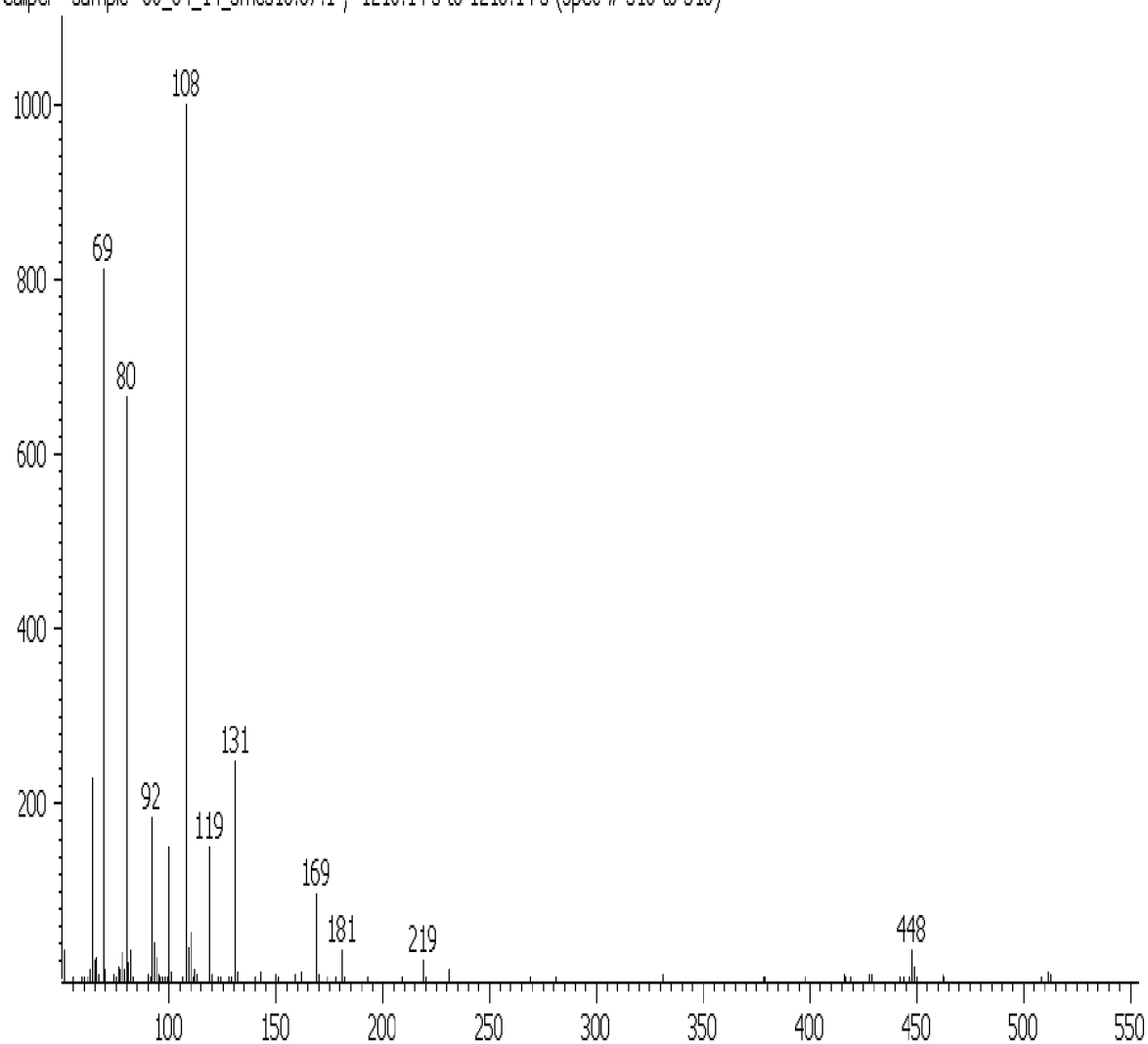
Příloha II. Hmotnostní spektra

Caliper - sample "08_04_14_smes16.67:1", 1218.14 s to 1218.14 s (Spec # 516 to 516)



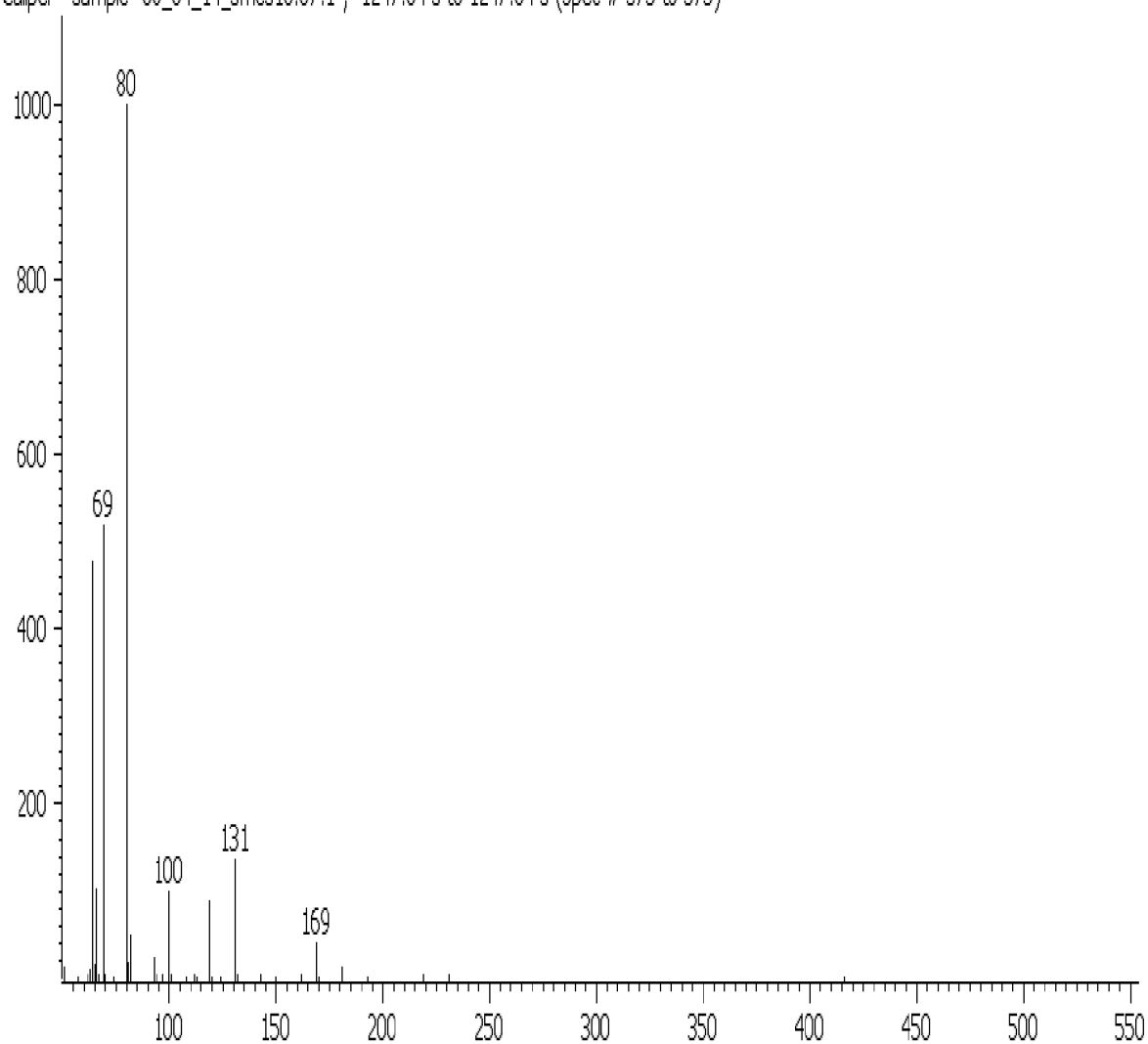
Naměřené hmotnostní spektrum analytu N-MeFOSA

Caliper - sample "08_04_14_smes16.67:1", 1218.14 s to 1218.14 s (Spec # 516 to 516)



Naměřené hmotnostní spektrum analytu N-EtFOSA

Caliper - sample "08_04_14_smes16.67:1", 1247.64 s to 1247.64 s (Spec # 575 to 575)



Naměřené hmotnostní spektrum analytu PFOSA