

# 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

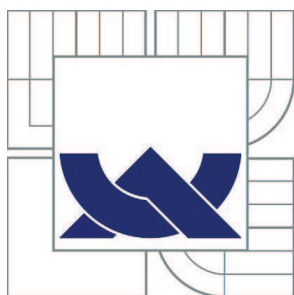
HODNOCENÍ ZÁTĚŽE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ POLYBROMOVANÝMI  
DIFENYLETHERY

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Bc. RICHARD ROČEK

BRNO 2011



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

## HODNOCENÍ ZÁTĚŽE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ POLYBROMOVANÝMI DIFENYLETHERY

EVALUATION OF ENVIRONMENTAL LOAD BY POLYBROMINATED DIPHENYL ETHERS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. RICHARD ROČEK

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2011



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

## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce: **FCH-DIP0525/2010** Akademický rok: **2010/2011**  
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Student(ka): **Bc. Richard Roček**  
Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)  
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)  
Vedoucí práce **prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.**  
Konzultanti:

### Název diplomové práce:

Hodnocení zátěže životního prostředí polybromovanými difenylethery

### Zadání diplomové práce:

1. Zpracování literární rešerše na téma PBDE v pevných maticích
2. Provedení výběru vhodného analytického postupu pro stanovení PBDE v těchto maticích
3. Optimalizace metody pomocí modelových vzorků pevných matic
4. Pomocí optimalizované metody provést stanovení PBDE v reálných vzorcích
5. Zpracování získaných výsledků a jejich interpretace

### Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2011

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

-----  
Bc. Richard Roček  
Student(ka)

-----  
prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.  
Vedoucí práce

-----  
doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 15.1.2011

-----  
prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Cílem mojí diplomové práce je zhodnocení zátěží půd polybromovanými difenylethery. Jedná se o půdy, které byly zasaženy požárem a půdy, které požárem zasaženy nebyly. V teoretické části jsou zpracovány dostupné informace o BDE z různých informačních zdrojů. Cílem praktické části je najít optimální metodu pro stanovení BDE, ověřit její výtěžnost a stanovit pomocí této metody reálné vzorky. V závěru práce obsahuje naměřené výsledky, jejich interpretaci v tabulkách a grafech a hodnocení zátěže jednotlivými kongenery. Klíčové je poté porovnání zátěže BDE u půd zasažených a nezasažených požárem. BDE se při požáru uvolňují do složek životního prostředí a je tedy předpoklad, že půdy zasažené požáry, by měli být kontaminovány více, než půdy, které požárem zasaženy nebyly.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

retardátory hoření, polybromované difenylethery, životní prostředí, půda, požár

## **ABSTRACT**

The target of my diploma thesis is evaluation of soil load by polybrominated diphenylethers. This is the soils, which were affected by fire and comparison with load by soils, which were not affected by fire. In theoretical part available informations about BDE from various sources are processed. Target of practical part is find the optimal method for determination BDE, verification of her yield a determination of reals samples with using this method. In the end this thesis contains measured results, its interpretation in tables, graphes and evaluation of load by individual congeners. Key is comparison load of soils, which were affected and which were not affected by fire. BDE are released during the fire and we can decide that soils which were caused by fire should be contaminated more, than soils, which were not caused by fire.

## **KEYWORDS**

flame retardants, polybrominated diphenylethers, environment, soil, fire

ROČEK, R. *Hodnocení zátěže životního prostředí polybromovanými difenylethery*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 77 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

## 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 studenta

### *Poděkování:*

Rád bych poděkoval vedoucí své bakalářské práce prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. a svojí konzultantce Ing. Ludmile Mravcové, PhD., za odborné vedení, připomínky, ochotu, čas a cenné rady při zpracování této bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat svým rodičům za to, že mi vytvořili podmínky pro studium a Terezce za podporu v těžkých chvílích.

## OBSAH

<b>1 ÚVOD .....</b>	<b>8</b>
<b>2 POLYBROMOVANÉ DIFENYLETHERY .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Výroba .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Fyzikálně – chemické vlastnosti .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3 Toxicita.....</b>	<b>13</b>
<b>2.3.1 Adsorbce, metabolismus a exkrece .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3.2 Akutní a chronická toxicita .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3.3 Vlivy na thyroïdní hormony.....</b>	<b>14</b>
<b>2.3.4 Neurologické efekty.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3.5 Zdravotní rizika .....</b>	<b>16</b>
<b>2.4 Průmyslové využití PBDE.....</b>	<b>17</b>
<b>2.5 PBDE ve složkách životního prostředí .....</b>	<b>20</b>
<b>2.5.1 Zdroje vstupu a osud PBDE ve složkách životního prostředí .....</b>	<b>21</b>
<b>2.5.2 PBDE v ovzduší .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.3 PBDE ve vodě a vodních sedimentech .....</b>	<b>24</b>
<b>2.5.4 PBDE v organismu člověka .....</b>	<b>24</b>
2.5.4.1 Vzorky tkání .....	24
2.5.4.2 Vzorky krve .....	25
2.5.4.3 Vzorky mateřského mléka .....	25
<b>2.5.5 Výskyt PBDE v rybách .....</b>	<b>26</b>
<b>2.5.6 Výskyt PBDE v ptácích.....</b>	<b>26</b>
<b>2.6 Regulace PBDE .....</b>	<b>26</b>
<b>2.7 Metody analytického stanovení .....</b>	<b>27</b>
<b>2.7.1 Vzorkování .....</b>	<b>28</b>
2.7.1.1 Vzorkování půd.....	28

2.7.1.2	Vzorkování ovzduší.....	28
2.7.1.3	Vzorkování vod .....	29
<b>2.7.2</b>	<b>Extrakce .....</b>	<b>29</b>
2.7.2.1	Mikrovláknová extrakce – MAE .....	29
2.7.2.2	Soxhletova extrakce.....	30
2.7.2.3	Extrakce pevnou fází – SPE .....	31
2.7.2.4	Ultrazvuková extrakce.....	33
2.7.2.5	Tlaková extrakce rozpouštědlem – PSE.....	33
2.7.2.6	Superkritická fluidní extrakce .....	34
<b>2.7.3</b>	<b>Přechlazení vzorku .....</b>	<b>35</b>
2.7.3.1	Adsorpční kapalinová chromatografie .....	35
<b>2.7.4</b>	<b>Analýza, separace.....</b>	<b>36</b>
2.7.4.1	Plynová chromatografie .....	36
2.7.4.2	Detektor elektronového záchytu .....	37
2.7.4.3	Hmotnostní spektrometr jako detektor v plynové chromatografii .....	38
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>42</b>
<b>3.1</b>	<b>Použité laboratorní přístroje, zařízení, vybavení, software, standardy a chemikálie .....</b>	<b>42</b>
3.1.1	Zařízení pro přípravu a pro extrakci vzorků.....	42
3.1.2	Plynový chromatograf.....	42
3.1.3	Software pro získání a prezentaci naměřených výsledků.....	43
3.1.4	Standardy, rozpouštědla a ostatní použité chemikálie .....	43
3.1.4.1	Standardy .....	43
3.1.4.2	Rozpouštědla .....	43
3.1.4.3	Ostatní použité chemikálie .....	44
<b>3.2</b>	<b>Postup stanovení .....</b>	<b>44</b>
<b>3.3</b>	<b>Postup vzorkování .....</b>	<b>44</b>

3.4	Postup úpravy vzorků.....	45
3.5	Stanovení sušiny.....	45
3.6	Izolace analytů z matrice .....	46
3.6.1	Ultrazvuková extrakce.....	46
3.6.2	Mikrovláknová extrakce .....	47
3.6.3	Tlaková extrakce rozpouštědlem.....	48
3.7	Čištění extraktů .....	49
3.7.1	Čištění adsorpční kolonovou chromatografií .....	49
3.7.2	Čištění koncentrovanou kyselinou sírovou .....	50
3.8	Ověření výtěžnosti metody.....	51
3.9	Analýza vzorků .....	52
4	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>54</b>
4.1	Kalibrační charakteristiky jednotlivých sledovaných kongenerů .....	54
4.2	Mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ).....	54
4.2.1	Výpočet LOD a LOQ .....	54
4.3	Analýza reálných vzorků .....	55
4.3.1	Vzorky prostých půd nezasazených požárem .....	56
4.3.2	Vzorky půd zasazených požárem .....	57
4.3.3	Porovnání zasazených a nezasazených půd .....	59
4.3.4	Zastoupení jednotlivých kongenerů v nejvíce zatížených vzorcích.....	60
4.4	Porovnání získaných výsledků s údaji z jiných prací .....	61
5	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>64</b>
6	<b>PŘÍLOHY.....</b>	<b>66</b>
7	<b>SEZNAM CITOVANÝCH ZDROJŮ.....</b>	<b>71</b>
8	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....</b>	<b>77</b>

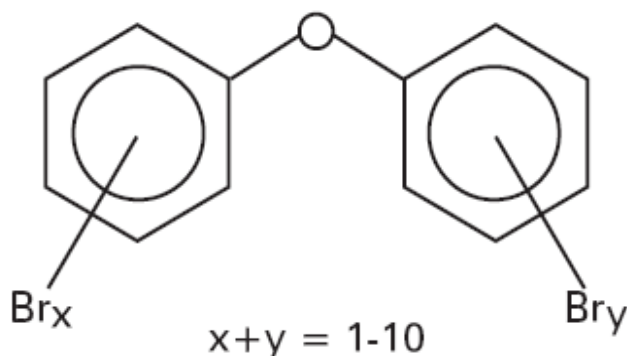
# 1 ÚVOD

V současné společnosti dochází k velkému rozvoji v oblasti výstavby budov, mrakodrapů, továren, a také významně narůstají různé typy osobní a nákladní dopravy. Věci jako koberce, nábytek, vybavení bytů, oleje nebo plyn na topení, které se zde nacházejí, zvyšují požární zatížení těchto budov. Nové technologické prostředky, které používají hasiči, moderní projekty a design budov, se snaží zabránit, nebo alespoň snížit ničivé následky požárů. Požáry také významně ohrožují dopravní prostředky a to především lodě, vlaky a letadla. V roce 2010 došlo v České Republice k 17 937 požárům, přímé škody na majetku činily 1 956 159 000 Kč a uchráněné hodnoty činily 11 115 762 000 Kč. Při požárech bylo 131 osob usmrceno a 1 060 zraněno. Z důvodu ochrany před požáry a také ke zvýšení času potřebného k tomu, aby se požár rozšířil, byly vyvinuty retardátory hoření (FR). Tyto retardátory jsou chemikálie přidávané do polymerních matric, ať již přírodního, nebo syntetického původu, které snižují rychlost hoření. Bromované retardátory hoření (BFR) patří do skupiny nejčastěji používaných retardátorů hoření. Základním principem mechanismu jejich účinku je skutečnost, že při nadměrném zahřátí dojde k jejich rozkladu na látky zabraňující dále vzniku požáru dříve, než se začne rozkládat samotná polymerní matrice. Důležitým faktorem pro výběr vhodného retardantu je jeho teplotní stabilita. V ideálním případě dojde k rozkladu retardátoru při teplotě zhruba o 50 °C nižší, než je teplota vznícení dané polymerní matrice. Tuto podmínku právě BFR splňují. Mezi BFR patří zejména polybromované difenylethery (PBDE). BFR tvoří 25% celkové světové produkce retardátorů hoření. BFR jsou vysoce bromované organické sloučeniny, jejichž relativní molekulová hmotnost přesahuje 200. Nejběžněji obsahují 50 až 85% (hmotnostních) bromu.

Cílem předložené diplomové práce je zpracování literární rešerše na téma polybromovaných difenyletherů s důrazem na fyzikálně – chemické a toxikologické vlastnosti, výskyt ve složkách životního prostředí a analytické stanovení. Dalšími úkoly pak jsou provedení výběru environmentálních matric a vhodného analytického postupu pro stanovení PBDE v těchto matricích, optimalizace metody pomocí modelových vzorků pevných matric, pomocí optimalizované metody provést stanovení PBDE v reálných vzorcích, zpracovat a interpretovat získané výsledky.

## 2 POLYBROMOVANÉ DIFENYLEETHERY

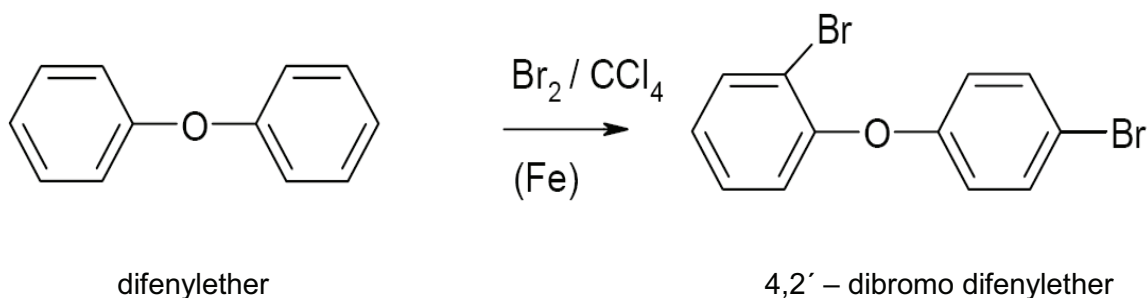
Jedná se o chemické látky, jejichž struktura je velmi podobná polychlorovaným bifenylym (PCB). Tvoří ji dvě substituovaná aromatická jádra spojená jednoduchou vazbou přes atom kyslíku. Polybromované difenyletery mohou potencionálně tvořit až 209 různých kongenerů lišících se množstvím a pozicí bromovaných substituentů. Díky jejich podobnosti s polybromovanými bifenyly, jsou číslovány stejně podle IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) systému. V komerčně využívaných směsích se vyskytuje menší množství kongenerů, než je teoreticky možné. Některé kongenery jsou totiž málo stabilní a mají sklony k debromaci, a proto jsou jako FR využívány pouze některé z nich [1]. V průmyslu jsou uplatňovány celkem čtyři komerčně dále využívané směsi PBDE: DekabDE, OktaBDE, PentaBDE a Tetra BDE [5]. TetraBDE je znám pod komerčním označením Bromkal 70-5 DE [6]. Rozvoj produkce PBDE nastal v 70. letech minulého století. PBDE se začaly běžně aplikovat a dodnes se používají v řadě průmyslových odvětví, jako například v elektronickém průmyslu (televizory, počítače), dopravním průmyslu (sedadla, bezpečnostní pásy u letadel nebo aut) a také v průmyslu textilním. PentaBDE v polyuretanových pěnách, DekabDE je naproti tomu součástí syntetických plastů, kterým je například polyester. Přestože používání celé řady chlorovaných sloučenin (PCB, DDT) bylo v mnoha světových zemích zakázáno, nebo velmi výrazně omezeno, pro PBDE žádné takové zákazy dosud neplatí, vyjma zákazu produkce PentaBDE a OktaBDE v Evropě na základě Direktivy 76/769/ EEC [21,22]. Naopak se produkce těchto látek neustále zvyšuje, například produkce DekabDE v roce 2000 představovala 55 000 tun, zatímco v roce 1991 byla spotřeba všech bromovaných retardátorů hoření pouze 36 000 tun [8], což činilo 82 % ze všech vyráběných BFR.



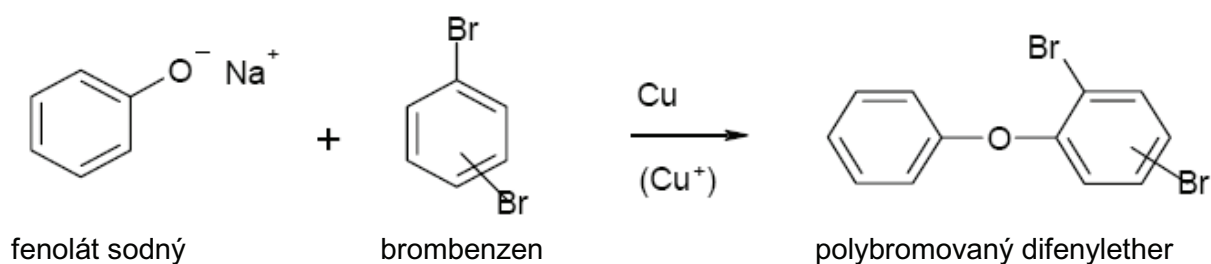
Obrázek 1: Obecná struktura polybromovaných difenyletherů [17]

## 2.1 Výroba

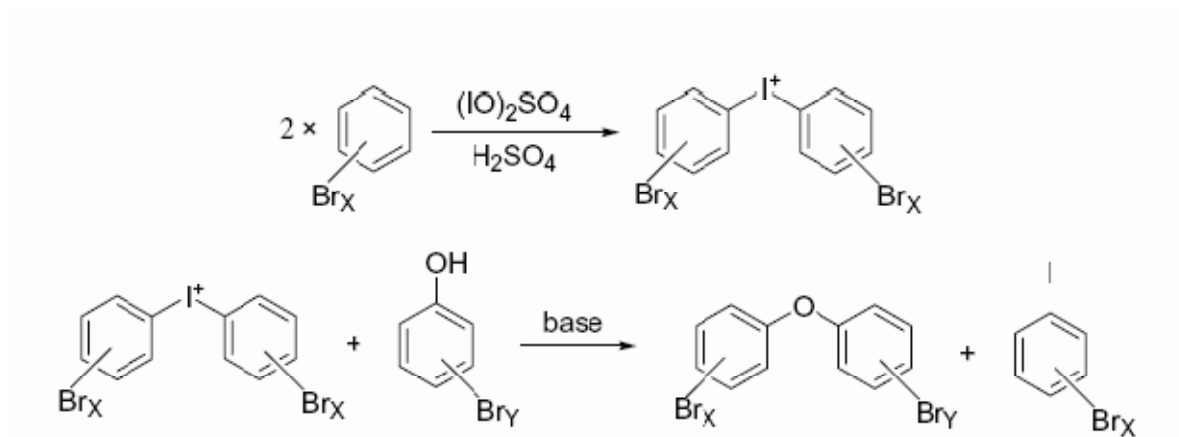
Komerční výroba začala v roce 1970 v Německu a pokračuje dodnes téměř po celém světě [24]. Průmyslová výroba je založena na katalytické syntéze PBDE z difenyletheru a bromu, při které dochází ke vzniku směsi různých izomerů. Nejprve dojde ke spojení fenolu a brombenzenu. Po spojení jsou sloučeniny dále bromovány pod zpětným tlakem, a to za použití bromidu železitého nebo hlinitého (Friedel – Craftssova katalýza), až do vzniku aromatických sloučenin. Bromace difenylů je poměrně vysoce specifická a substituce probíhá nejprve do pozice 4 a poté do pozice 2 na každém fenylovém kruhu; dochází tak až k tvorbě 2, 2', 4, 4'- tetrabromdifenyletheru [8]. Další možností syntézy PBDE je využití reakce fenolátu a brombenzenu, případně reakce difenyljodoniové soli s bromfenolátem [9]. Průmyslově se nejvíce vyrábí směsi obsahující PBDE a jejich izomery. Z průmyslově vyráběných směsí jsou dominantní TetraBDE, PentaBDE, OktaBDE a dekabromdifenylether (DekaBDE). Komerčně vyráběné směsi PBDE jsou stabilní sloučeniny s teplotou varu mezi 310 a 425°C. Jsou to sloučeniny hydrofobní a lipofilní, zvláště výše bromované [8]. Dalším možným způsobem výroby PBDE jsou reakce fenolátu sodného s brombenzenem, tzv. Ullmanova syntéza, a rovněž reakce polybromovaného fenolu s polybromdifenyljodoniovou solí, při níž dochází k velmi pevnému spojení výsledného difenyletheru [11]. V současnosti byly vyvinuty nové postupy pro syntézy; mezi nejvýznamnější postupy, které již byly popsány, patří výroba kongeneru 153 a 154 z prekurzoru 2,5dibrom-4-fluoronitrobenzenu, případně syntéza kongeneru 81 modifikovanou Sinakiho reakcí [10].



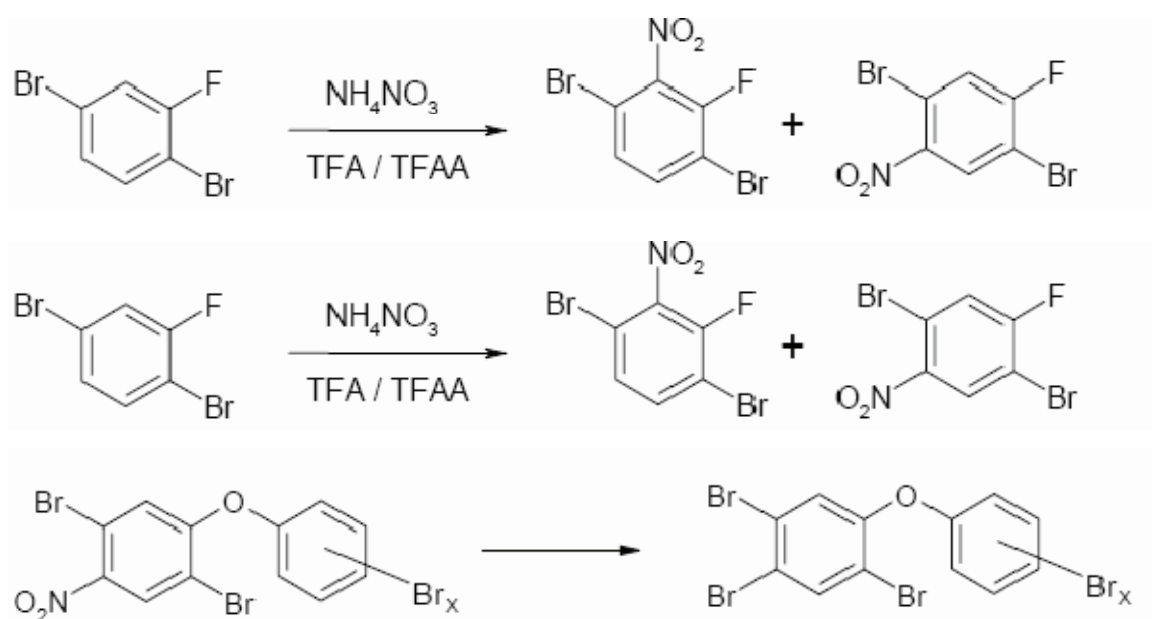
Obrázek 2: Bromace difenyletheru



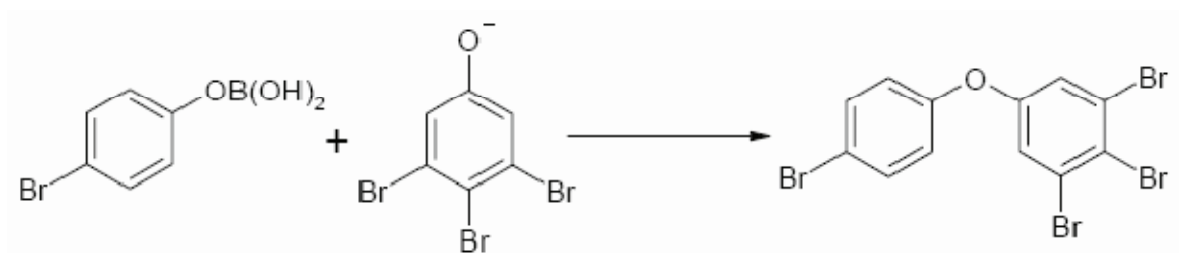
Obrázek 3: Ullmanova syntéza



Obrázek 4: Výroba PBDE reakcí difenyljodoniové soli a fenolu



Obrázek 5: Výroba kongenerů 153 a 154 z prekursoru 2,5-dibrom-fluorobenzenu



Obrázek 6: Výroba kongeneru 81 modifikovanou Sinakiho reakcí

## 2.2 Fyzikálně – chemické vlastnosti

Komerčně využívané PBDE jsou relativně stabilní sloučeniny, jejichž bod varu se pohybuje v rozmezí 310 – 425 °C. Tlak par PBDE významně závisí především na obsahu

bromu. Platí zde základní pravidlo: pokud kongenery obsahují více bromu, mají tlak nasycených par nižší. PBDE, které jsou složkami směsí používaných jako retardátory hoření, mají bod tání v rozsahu 80 °C (BDE 47) až 300 °C (BDE 209). Celá řada kongenerů se přitom nachází za normálních podmínek v kapalném stavu [4]. Důležitou vlastností je u perzistentních polutantů jejich rozdělovací koeficient oktanol/voda ( $\log K_{ow}$ ). Čím je tato hodnota vyšší, tím více je sloučenina hydrofobní. Hodnoty  $\log K_{ow}$  PBDE se pohybují v rozmezí 4 – 10, jedná se proto o látky vysoce hydrofobní. PBDE jsou, stejně jako ostatní organohalogenované aromatické sloučeniny (PCB, DDT), značně lipofilní a perzistentní látky. Jsou velmi odolné vůči kyselinám, zásadám, teplu a světlu, oxidačním i redukčním reakcím, a proto představuje jejich únik do složek životního prostředí značné riziko, neboť zde mohou perzistovat velmi dlouhou dobu [2,7]. Navíc z nich při nadměrném zahřívání nebo spalování mohou vznikat velmi toxické látky, jako jsou například polybromované dibenzofurany (PBDF) a polybromované dibenzodioxiny (PBDD).

V tabulce 1 jsou uvedeny vybrané fyzikálně – chemické vlastnosti BDE.

Tabulka 1: Vybrané fyzikálně – chemické vlastnosti PBDE [2,4,5,6,11]

	<b>TetraBDE</b>	<b>PentaBDE</b>	<b>OktaBDE</b>	<b>DekaBDE</b>
<b>Mr (g/mol)</b>	485,8	564,69	801,38	959,22
<b>CAS</b>	40088-47-9	32534-81-9	32536-52-0	1163-19-5
<b>Rozkladné produkty</b>	Halogenidy, oxidy uhlíku	Halogenidy, oxidy uhlíku	Halogenidy, oxidy uhlíku	Halogenidy
<b>Rozpustnost</b>	Isooktan, toluen	Methanol, aceton, benzen	Methanol, styren, benzen, aceton	o-xylen, toluen
<b>Bod tání (°C)</b>	80 – 200	(-7) – (-3)	70 – 150	290 – 306
<b>Bod rozkladu (°C)</b>	-	>200	-	425
<b>Bod varu (°C)</b>	-	>300	-	-
<b>Log <math>K_{ow}</math></b>	5,87 – 6,16	6,64-6,97	8,35 – 8,9	9,97
<b>Skupenství (25 °C)</b>	Kapalné	Kapalné	Pevné	Pevné (prášek)
<b>Barva</b>	-	Jantarová	Šedobílá	Bílá

Tabulka 2: Jednoduché předpony a počty izomerů

číslo	označení	počet izomerů
1.	mono-	3
2.	di-	12
3.	tri-	24
4.	Tetra-	42
5.	penta-	46
6.	hexa-	42
7.	hepta-	24
8.	okta-	12
9.	nona-	3
10.	deka-	1

## 2.3 Toxicita

V současnosti není stále dostupné komplexní toxikologické hodnocení všech retardátorů hoření, zejména PBDE. Bylo sice provedeno větší množství studií s komerčními směsmi PBDE, avšak v rámci kongener – specifické toxicity jsou stále k dispozici pouze omezená data. Dá se ale předpokládat, a to vzhledem ke strukturní podobnosti PBDE a PCB, že se tyto látky budou v životním prostředí působit na základě stejných mechanismů jako polychlorované bifenyly [10].

### 2.3.1 Adsorbce, metabolismus a exkrece

Ohledně vstřebání, metabolismu a vylučování PBDE jsou k dispozici informace především pro hlodavce. Pomocí několika dosud provedených a publikovaných studií na laboratorních myších s kongenerem 209 bylo již prokázáno, že tyto látky jsou poměrně rychle z organismu vylučovány prostřednictvím výkalů (cca 99%); pouze 1 % bylo vyloučeno kůží nebo močí. Tento výsledek naznačuje prakticky nulovou absorpci tohoto kongeneru v trávicím traktu [12]. U níže bromovaných kongenerů tomu tak není; například pro některé

testované TetraBDE nebo PentaBDE byly zjištěny vyšší koncentrace v játrech a ledvinách, což indikuje jejich pravděpodobnou bioakumulaci v těchto tělesných orgánech [13]. Například u BDE – 47 a BDE – 99 bylo množství vyloučené močí 14 % a výkaly 43 % dávky, a to po pěti dnech od expozice [2]. Biodostupnost je v důsledku toho u níže bromovaných kongenerů mnohem nižší než u DekabDE, cílovými orgány jsou zejména tuková tkáň, játra, mozek a nadledvinky. Jako substituční deriváty byly u kongeneru BDE – 209 detekovány pouze hydroxy – deriváty a methoxy – deriváty, které byly rovněž nalezeny u níže bromovaných kongenerů. Hlavní metabolický mechanismus PBDE, prokázáný u hlodavců, je oxidativní debromace [12].

### **2.3.2 Akutní a chronická toxicita**

Toxicita PBDE závisí především na jejich molekulové struktuře. U komerčně používaných směsí byla akutní toxicita při testech na laboratorních krysách poměrně nízká ( $LD_{50} > 1$  g/ kg živé váhy), avšak u krys, kterým byla směs OktaBDE podávána, byla pozorována například zvýšená hmotnost jater a mikroskopické změny v jaterní tkáni [13]. Jiná studie zase prokázala, že zejména u níže bromovaných směsí dochází u exponovaných myší k indukci jaterních enzymů [4].

### **2.3.3 Vlivy na thyroideální hormony**

Při studii vlivů PBDE na lidský organismus bylo prokázáno, že některé efekty PBDE mohou v lidském těle vést až ke snížení hladiny thyroideálního stimulačního hormonu (TSH), ke snížení hranice séra  $T_4$  a snížení thyroideální protilátky u pracovníku vystavených vlivům DecaBDE. Nebyla však prokázána žádná spojitost mezi hodnotou BDE 47 v krevní plazmě a hodnotami thyroideálních hormonů u mužů konzumujících různé druhy ryb z Baltského moře. Thyroideální efekty zahrnující například snížení hladiny séra  $T_4$ , nebo hyperplasii, byly pozorovány na laboratorních krysách a myších, kterým byly orálně podávány níže bromované komerční směsi PBDE [24]. Doprovázející změny v hladinách TSH nebyly zjištěny a pokles hladiny séra  $T_4$  byl pravděpodobně způsoben zvýšením metabolických formací hydroxidových metabolitů PBDE, které byly svázány s thyroideálními transportními proteiny. Dále probíhající studie ukázala snížení séra  $T_4$  u krys a myší vystavených expozici vyšší než 18 mg/kg hmotnosti/den OktaBDE, případně dávky vyšší než 30 mg/kg hmotnosti/den PentaBDE po dobu 4 dní a u krys a myší, vystavených expozici vyšší než 18 mg/kg hmotnosti/den PentaBDE po dobu 14 dní. Dále bylo zjištěno, že expozice komerční směsi obsahující 77 % DecaBDE a 22 % NonaBDE v dávce vyšší než 80 mg/kg hmotnosti/den trvající 30 dní, způsobují thyroideální hyperplasii. Efekty působení PBDE na

hodnoty  $T_4$  se mohou měnit v závislosti na druhu; krysy jsou na tyto vlivy více citlivé než člověk. Tento názor je podpořen studií, která ukazuje, že PBDE ovlivňují vazbu thyroidních hormonů na transthyretin (TTR), hlavní transportní protein krysy. Protože TTR není hlavním transportním proteinem u lidí, vyplynulo z této studie, že lidé jsou na thyroidní efekty PBDE méně citliví než krysy. Přestože TTR není hlavním lidským transportním hormonem, je to však protein ovlivňující transport  $T_4$  do mozku [24].

Další studie byla založena na podávání příslušných dávek směsi PBDE zvířatům a po 24 hodinách od poslední dávky byly odebrány vzorky krevního séra a jater. Obě podávané směsi s převažujícím obsahem níže bromovaných kongenerů (BDE – 71, BDE – 79) způsobovaly značný pokles sérového tyroxinu a o něco méně výrazný pokles trijodtyroinu. Oba poklesy byly závislé na koncentraci. Naproti tomu při podání směsi, která obsahovala téměř 98 % BDE – 209, nedošlo k významnějším změnám v hladinách hormonů. Přestože výše uvedená krátkodobá studie neprokázala účinek DekabDE na thyroidní hormony a jaterní enzymy, dlouhodobá studie karcinogenity naopak prokázala zvýšený výskyt nezhoubných nádorů a karcinomů štítné žlázy u myši po expozici DekabDE [26]. Jak naznačují tyto skutečnosti, mohou PBDE (respektive jejich metabolity) působit jako tzv. „endocrine disruptors“ neboli látky s endokrinním účinkem, které interferují s hormonálními pochody [4, 14, 15].

K dalším možným závažným a nežádoucím biologickým efektům patří jejich neurotoxicita. PBDE jsou strukturně velmi podobné další skupině významných organických kontaminantů, a to PCB, u nichž byly již v minulosti prokázány vlivy, které vedly ke změně chování u myši. Zatím nebyl prokázán významnější vliv na reprodukci myši a také nebyla prokázána teratogenita těchto látek. Při podávání komerční směsi OktaBDE myším docházelo ke zvýšení hladiny cholesterolu a také k významnému snížení průměrné hmotnosti novorozeňat [4].

Vedle nežádoucích efektů vyvolaných samotnými PBDE je nutné zohlednit i riziko vzniku toxických látek při jejich fotolýze nebo pyrolýze. Mezi nejvíce nebezpečné vznikající sloučeniny patří bezesporu polybromované dibenzodioxiny (PBDD) a polybromované dibenzofurany (PBDF) [4].

Informace vztahující se k toxikologii PBDE na člověka jsou omezené. Je známo pouze několik výsledků z testů prováděných na laboratorních zvířatech. Velmi známý je případ náhodné expozice z roku 1973, která byla zjištěna v Michiganu v USA. Přípravek Firemaster (směs 12 různých kongenerů PBDE) byl omylem přidán do krmení pro zvířata na farmě,

celkem cca 450 kg této látky. O rok později byly PBDE identifikována a kvantifikována v laboratoři v Marylandu a přípravek Firemaster byl zakázán [34].

#### **2.3.4 Neurologické efekty**

Při testech prováděných u myši a krys nebyly pozorovány žádné známky neurotoxicity nebo neurohistopatologie. Při expozici byla zvířatům podávána komerční směs DekapBDE a to v množství 16 – 19 mg/kg hmotnosti/den po dobu 14 dní, dále 8 – 9 mg/kg hmotnosti/den po dobu 13 dní a třetí skupině 2,55 – 7,78 mg/kg váhy/den a to po dobu 103 týdnů. Vyhodnocení u potomků i u dospělých neukázalo žádné změny v rozvoji motorických nebo sensorických funkcí [24].

#### **2.3.5 Zdravotní rizika**

Toxicita DekapBDE je mnohem méně výrazná než toxicita komerčních směsí Okta a Penta kongenerů, a to jak toxicita akutní, tak také chronická. Tento rozdíl pravděpodobně souvisí se skutečností, že níže bromované kongenery se lépe akumulují v lidském těle, a to z důvodu jejich lepšího štěpení, zadržování v lipidických tkáních, rychlosti metabolismu a eliminace. Především při srovnání s níže bromovanými kongenery prokázala orální studie prováděná u krys pouze minimální absorpci DekapBDE (0,3 – 2%), poměrně krátký poločas rozpadu (<24 hodin) a velmi rychlou exkreci z těla (>99% za 72 hodin). Tyto toxikokinetické odlišnosti ukazují mnohem nižší sklon DekapBDE k bioakumulaci. Převážná většina negativních zdravotních efektů, které byly o PBDE zjištěny, pocházejí z testů orální expozice laboratorních zvířat. Tato data ukazují, že DekapBDE způsobuje mnohem méně zdravotní škodlivých efektů v lidském těle, než níže bromované kongenery. Dále testy na laboratorních zvířatech ukazují, že hlavním cílem níže bromovaných kongenerů jsou játra, štítná žláza a centra neurotického vývoje. Tyto orgány budou pravděpodobně terčem PBDE také u lidí. Bylo objasněno, že PBDE mají ve složkách životního prostředí podobné účinky jako PCB a DDT, tj. možná genetická rekombinace, která může vést k řadě vážných onemocnění, například k tvorbě nádorů [24].

Tabulka 3: Přehled toxikologických efektů vyvolaných vybranými PBDE [2]

	<b>Akutní toxicita</b>	<b>Chronická toxicita</b>
<b>TetraBDE</b>	nevolnost, zvracení, paralýza až kóma, LD <sub>50</sub> > 5g/kg živé hmotnosti (orální podávání u myši)	ekzém, bolesti hlavy, podráždění, stres, ztráta paměti, anorexie, halucinace, poruchy artikulace, otupělost
<b>PentaBDE</b>	podráždění sliznice, mírné podráždění při očním kontaktu, LD <sub>50</sub> : 6200mg/kg živé hmotnosti (orální podávání u myši)	poškození jater, možná reverzibilní thyroidní hyperplasie
<b>OktaBDE</b>	jaterní změny	podráždění, třes, ztráta paměti, anorexie, bolest hlavy, otupělost, poruchy řeči, halucinace
<b>DekaBDE</b>	mírné podráždění při očním kontaktu LD <sub>50</sub> >1000mg/kg živé hmotnosti (orální podávání u krys)	poškození jater a ledvin

## 2.4 Průmyslové využití PBDE

Největší producenti technických směsí na bázi PBDE [10]:

*Dead Sea Bromines and Eurobrome, Nizozemí*

*Atochem, Francie*

*Great Lakes Chemical Ltd, Velká Británie*

*Great Lakes Chemical Corporation, USA – foto*

*ALbermale, USA*

*Tosoh, Japonsko*

*Matsunaga, Japonsko*

*Nippo, Japonsko*



Obrázek č. 7: Letecký pohled na továrnu firmy Great Lakes Chemical Corporation v Texasu, USA. Zdroj: Google Earth

*DekaBDE*: BDE 209 se začal komerčně využívat od roku 1976 v USA. Celoroční produkce této látky je přibližně 55 000 tun (9 800 v Japonsku, 2 000 v SRN nebo 1 300 v Nizozemí) [6]. Hlavní využití nachází tato surovina v „high impact“ polystyrenech, polyetylenftalátech, termoplastických polyesterových pryskyřicích, polyvinylchloridu a elastomerech. Směs DekabDE s přísadou  $Sb_2O_3$  se používá k ochraně nylonu a polyester – bavlněných vláken, která se vesměs používají k výrobě stanů. BDE 209 se také hojně aplikuje jako přísada izolačních materiálů pro elektrické kabely. Je známa celá řada komerčních výrobků BDE 209; mezi nejčastěji využívané patří především ty s komerčním označením FR – 300BA, Bromkal 81, DE 83, DP 10F, FR – 1210, EB 10FP, Chemflam 011, FlameCut Br 100, Tardex 100, Hexcel PF1 a mnoho dalších [6].

*OktaBDE*: Jeho celková spotřeba se pohybuje okolo 6 000 tun/rok, přičemž v Japonsku činí zhruba 1 000 tun, v Německu a Nizozemí 800 tun [6]. Vysoký obsah bromu a velké rozpětí bodu tání činí OktaBDE vhodným pro použití v řadě termoplastů. Jejich aplikace je nejběžnější například v nylonu, „high impact“ polystyrenu, „low density“ polyethylenu nebo polypropylenových kopolymerech. Jejich použití je též vhodné v adhezivech a nátěrových

hmotách [6]. Hlavní oblastí využití OktaBDE kongenerů spočívá zejména v součástkách počítačů a dalších kancelářských přístrojích. Komerční názvy jsou u běžně používaných směsí OktaBDE; jsou to například Bromkal 79-8 DE, Fr 143, Tardex 80, Fr 1208, Adine 404 či Saytex 111 [6].

*PentaBDE:* Současná celosvětová spotřeba PentaBDE směsí je zhruba 8 500 tun/rok [6]. Komerční směsi PentaBDE jsou používány jako aditiva v nenasycených polyesterech, flexibilních polyuretanech, epoxy pryskyřicích, fenolových pryskyřicích a textilních [10]. Komerčně využívané jsou zejména směsi DE 71, FR 1205/1210, Bromkal 70, Bromkal 61 nebo PentaBromProp. V minulosti byla hojně využívána směs Bromkal 70 – 5 DE (34 % TetraBDE, 60 % PentaBDE a 6 % HexaBDE). Ta se již v současné době komerčně nevyrábí, ani se nepoužívá, a to zejména díky tomu, že tato směs v minulosti významně přispěla ke kontaminaci životního prostředí pentabromovanými difenylethery [6].

*TetraBDE:* Komerčně využívaná směs obsahuje v průměru cca 41 % TetraBDE, 45 % PentaBDE, 6 % HexaBDE a cca 8 % směsi PBDE různorodého složení. Roční spotřeba TetraBDE se pohybuje řádově v tisíci tunách a nejčastější využití nachází, podobně jako PentaBDE, v epoxy a fenolových pryskyřicích a textilních vláknech [6].

Tabulka 4: Přehled některých aplikací PBDE používaných jako retardátory hoření v polymerech [8]

Typ polymeru (pryskyřice) s přídavkem retardátoru hoření	Oblast použití
akrylonitril-butadien-styren	televizory, počítače, vysoušeče vlasů
epoxy pryskyřice	elektronické součástky
fenolové pryskyřice	papírové lamináty
polyakrylonitril	světla, elektronika
polyamid	elektronické konektory, autodíly
polystyren	detektory kouře, kancelářské přístroje
polyvinylchlorid	kabely
polyuretan	izolace, imitace dřeva
textil	koberce, stany
polypropylen	televizory, elektronika
polybutylen tereftalát	pojistky, vypínače

## 2.5 PBDE ve složkách životního prostředí

Výsledkem masivního používání retardátorů hoření je jejich postupné uvolňování do životního prostředí a s tím související kontaminace téměř všech jeho složek. Vzhledem ke skutečnosti, že zvláště výše bromované difenylethery jsou poměrně málo chemicky reaktivní a vysoce hydrofobní, má za následek, že jsou velmi perzistentní. Mají zejména tendenci k bioakumulaci v tukových tkáních organismů, sedimentech a kalech z čistíren odpadních vod [2,4,5]. Poprvé byla přítomnost PBDE zjištěna ve vodních sedimentech z oblasti Velkých jezer v USA (1979) a v tukových tkáních ryb ve Švédsku (1981), které zde byly odloveny, například ve tkáních štik, úhoří nebo mořští pstruzi [3,18]. Kromě ryb byly tyto kontaminanty detekovány rovněž v tuleních tkáních, případně ve tkáních různých druhů ptáků a v jejich

vejcích, a to v koncentraci ng/g tuku. Nejvyšší koncentrace PBDE se vyskytly u ryb žijících v okolí průmyslových podniků, které se zabývají buď přímo výrobou PBDE, nebo jejich následným zpracováním (např. textilní podniky). Dalšími státy, ve kterých byl potvrzen výskyt PBDE v životním prostředí, jsou například Japonsko (ryby, škeble, sedimenty), Německo (ryby, mořští ptáci, mateřské mléko), Nizozemí (úhoři z některých řek a jezer, játra tresek a sledů ze Severního moře) a mnoho dalších zemí, včetně České republiky [2,4,5]. Z výsledků monitorování výskytu polybromovaných difenyletherů v životním prostředí je patrné, že nejvíce rozšířeným kongenerem je BDE 47 (2,2',4,4',5,5'- hexaBDE) a BDE 154 (2,2',4,4',5,6'- hexaBDE) [2,4,5,6,8]. Velmi znepokojující je také ta skutečnost, že navzdory stále relativně poměrně nízkým hodnotám koncentrací detekovaných PBDE, a to v porovnání s typickými hladinami polychlorovaných bifenyly, je zřejmé, v současnosti dosti vysoký vzestup kumulace retardátorů hoření ve složkách životního prostředí [2].

Působení PBDE nejsou pochopitelně vystaveny pouze ryby a další zástupci živočišné říše, ale také lidé zabývající se výrobou nebo zpracováním těchto sloučenin, protože tyto látky se mohou dostat do těla i při kontaktu s kůží nebo inhalací PBDE, vázaných na částičky prachu obsažené ve vzduchu [19]. Významnou cestou expozice je rovněž konzumace ryb z kontaminovaných vod a jejich možných predátorů, tj. vodních ptáků. Není proto překvapením, že v posledních letech byly stopy PBDE identifikovány i v lidské krevní plazmě, tukové tkáni, vlasech nebo v mateřském mléce, a to v hodnotách mezi 500 – 1 000 pg/g tuku (resp. na gram matrice u krevní plazmy) [15]. Zvláště přítomnost v mateřském mléce je velmi znepokojující, neboť jeho konzumací mohou být kontaminací přímo ohroženi kojenci.

Mezi zdroje PBDE patří zejména odpadní vody z továren vyrábějících tyto látky, případně také z továren, které tyto látky zpracovávají. Dalším významným zdrojem jsou odpadní produkty ze skládek nebo spaloven odpadů. Zdrojem emisí jsou také elektronická zařízení, která PBDE obsahují, dále recyklační provozy a komunální odpadní vody. Kromě syntetických PBDE se bromované difenyletery vyskytují v přírodě také přirozeně. Bylo zjištěno, že u hub *Dyidea herbecea*, *Dysidea chlorea* a *Phyllospongia falascens*, pocházejících z ostrova Palau v Mikronésii [16], byla prokázána produkce některých PBDE.

### **2.5.1 Zdroje vstupu a osud PBDE ve složkách životního prostředí**

PBDE se mohou do životního prostředí uvolňovat již při jejich výrobě, aplikaci, nebo při užívání výrobků, ve kterých jsou obsaženy, a v neposlední řadě také při jejich likvidaci. Je však nutné zdůraznit, že PBDE jsou látky málo těkavé a málo rozpustné, a proto hlavním zdrojem jejich úniků je prach nebo částice vznikající z výrobků, kde jsou tyto látky obsaženy.

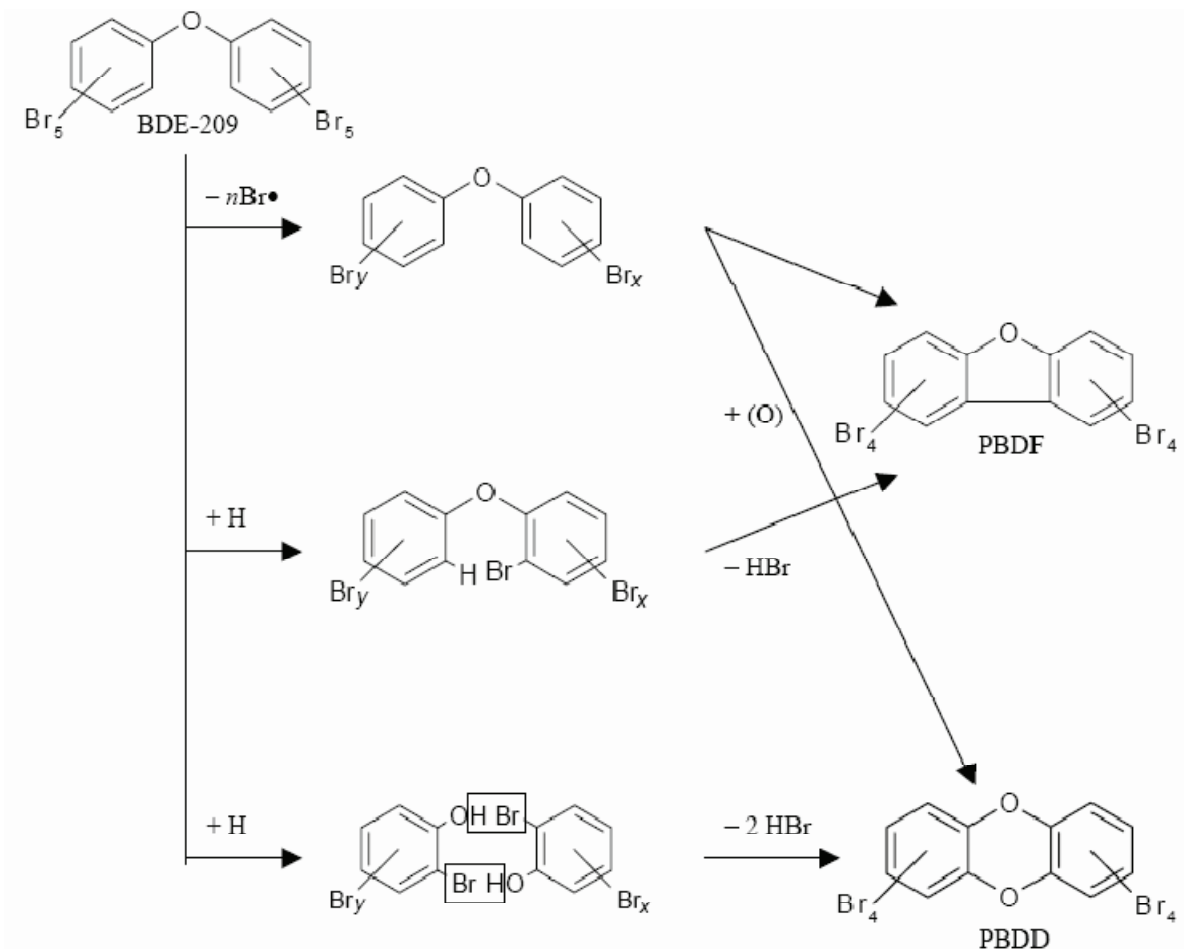
Zdroje vstupu PBDE do životního prostředí můžeme rozdělit na zdroje primární a zdroje sekundární. Mezi primární zdroje patří například koberce, stany, imitace dřeva, televizory, osobní počítače, vlákna, nátěrové hmoty, pojistky, světla a vypínače. Jedná se zejména o výrobky, do kterých byly PBDE použity jako komerční přípravky, a z nichž se následně uvolňují do složek životního prostředí. Mezi zdroje sekundární patří především odpařování z již aplikovaných nátěrů, nebo revolatilizace biotických a abiotických matric.

Zdroje emisí PBDE do životního prostředí:

- úniky při výrobě PBDE a dalším zpracování (výroba polyuretanových pěna plastů);
- úniky při zpracování produktů obsahujících PBDE na konečné výrobky (nábytek);
- uvolňování PBDE do životního prostředí z výrobků, kde jsou obsaženy (nábytek, čalounění), během jejich užívání;
- uvolňování PBDE do životního prostředí z výrobků, kde jsou obsaženy, poté, co se výrobek stane odpadem a je skládkován, spalován nebo jinak zneškodňován.

V mnoha studiích, ve kterých byly hodnoceny lokální vlivy komerčních přípravků s obsahem PBDE bylo prokázáno, že PBDE mohou zásadním způsobem ohrožovat zdravý život mnohých, především vodních organismů, a tak narušovat citlivé rovnováhy v rámci přírodních ekosystémů. PBDE způsobují především poškození reprodukčních funkcí a růstu u organismů vodních [23].

Vedle závažných nežádoucích biologických efektů, které samotné PBDE ve složkách životního prostředí vyvolávají, je nutné zohlednit také riziko vzniku toxických látek při fotolýze nebo pyrolýze mateřských sloučenin. Mezi nejvíce nebezpečné látky, které mohou takto vznikat, patří zejména polybromované dibenzodioxiny (PBDD) a polybromované dibenzofurany (PBDF) [4]. Možný mechanismus jejich vzniku představuje obrázek č. 8.



Obrázek č. 8: Možný mechanismus vzniku PBDD a PBDF [10]

### 2.5.2 PBDE v ovzduší

PBDE byly detekovány nejen v řadě biologických vzorků, ale také ve vzduchu, a to jak v uzavřených místnostech, tak také ve volném prostranství. Níže bromované PBDE se vyskytují ve vyšších koncentracích než výše bromované kongenery těchto látek, a to zřejmě díky jejich vyšší těkavosti [4]. Poprvé byly PBDE (kongener 209) detekovány v roce 1979 v blízkém okolí továren vyrábějících PBDE [2]. V dalších letech byly PBDE (zejména kongenery 47, 99, 100, 153 a 154) detekovány v řadě dalších vzorků ovzduší. Naměřené hodnoty se pohybovaly v jednotkách až desítkách  $\text{pg}/\text{m}^3$  vzduchu. Kongener 47 byl přednostně identifikován v plynné fázi, zatímco kongenery 99 a 100 ve fázi tuhé, tj. nasorbované na částicích polévatého prachu. Vysoké koncentrace PBDE byly zjištěny především ve vzorcích ovzduší odebraného z místností s vyšším počtem počítačů, avšak ve srovnání s nálezů pocházejícími z blízkosti průmyslových závodů jsou stále řádově nižší [20]. Zdaleka nejvyšší koncentrace byly zjištěny v blízkosti průmyslových továren

zabývajících se demontáží elektrotechnických zařízení. Koncentrace PBDE zde byly 400 – 4000 krát vyšší, než koncentrace prokázané v kancelářích a místnostech s počítači [2].

### **2.5.3 PBDE ve vodě a vodních sedimentech**

Sedimenty jsou jedny z nejčastěji sledovaných matric, které byly dosud na obsah PBDE vyšetřovány. Poprvé byly PBDE identifikovány v USA v roce 1979, a to právě ve vodních sedimentech. V současné době je v sedimentech v nejvyšší koncentraci zastoupen kongener 209, který tvoří ve většině případů až 99% celkového obsahu PBDE [57], dále jsou zde obsaženy zejména kongenery 47, 99, 100, [10]. Zvláště těžší kongenery PBDE jsou ve vodě jen velmi málo rozpustné, a proto jsou ve vodním prostředí detekovány jen ve velmi malých koncentracích, a to pouze s výjimkou kontaminovaných řek, kde se jejich obsah pohybuje v jednotkách pg/l. Převládají kongenery BDE – 47 a BDE – 99 [8]. Vzorkování vod se provádí převážně metodou pasivního vzorkování (SPMD).

### **2.5.4 PBDE v organismu člověka**

PBDE se nacházejí v tukových tkáních lidí, v krvi a mateřském mléce. Střední hodnota PBDE je ve Spojených státech amerických 35 ng/g hmotnosti tuku. Ve Švédsku je tato koncentrace téměř dvacetkrát menší a to 2 ng/g hmotnosti tuku. Vzorky lidské tkáně ze Spojených států amerických mají jedny z nejvyšších obsahů PBDE na světě. Celková koncentrace PBDE vyšší než 500 ng/g hmotnosti tuku byla stanovena v krvi a hodnota přesahující 700 ng/g hmotnosti tuku byla naměřena v mateřském mléce. Přestože hodnoty PBDE v lidských tukových tkáních, krvi a mateřském mléce dramaticky rostou, stále jsou však nižší než koncentrace zjištěné v rybách a mořských savcích [17].

#### **2.5.4.1 Vzorky tkání**

První záznamy o výskytu PBDE ve vzorcích lidské tkáně pocházejí z USA, kde byly detekovány Hexa – NonaBDE spolu s kongenerem 209. V období let 1995 – 1997 byla ve Švédsku provedena analýza 77 vzorků tukových tkání lidí. Koncentrace kongeneru 47 se pohybovala v rozmezí 3,8 – 16 ng/g lipidů. V roce 1999 byla ve Švédsku opět provedena studie, při které bylo analyzováno několik vzorků tukové a jaterní tkáně (analyzovány byly kongenery 28,47, 85, 99, 100, 153 a 154), nejvyšší nálezy byly prokázány v případě BDE 47, 99 a 153, přičemž celkový obsah PBDE se pohyboval do 5 ng/g lipidů u tukové a 6 – 14 ng/g lipidů u jaterní tkáně. Podobné hladiny PBDE v těchto tkáních byly zjištěny rovněž ve Finsku nebo Španělsku. Ve stejném období byly provedeny v USA studie zaměřené na sledování

kongenerů 47, 99 a 153 také ve vzorcích prsního tuku, kde byly tyto kongenery detekovány přibližně ve stejné koncentraci [10].

#### **2.5.4.2 Vzorky krve**

Krev patří mezi významné biologické matrice, na základě jejichž analýzy lze zjistit zátěž lidského organismu různými environmentálními kontaminanty. Existují tři způsoby analýzy krve, tj. vyšetření krevní plasmy, séra nebo celé krve [10]. V roce 1997 byla provedena analýza 40 vzorků krevní plasmy ve Švédsku, přičemž bylo detekováno šest kongenerů PBDE – 28, 47, 66, 99, 100 a 153. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny v případě kongeneru BDE 47, jehož průměrná koncentrace byla 2,2 ng/g lipidů. Při podobných testech prováděných v Německu byl jako majoritní kongener stanoven opět BDE 47 s průměrnou koncentrací 3,9 ng/g lipidů. Tyto testy probíhaly v letech 1985, 1990, 1995 a 1999 [32]. Zajímavá je bezesporu ta skutečnost, že u žen byly zjištěny hladiny PBDE v krvi výrazně nižší než u mužů. Tato skutečnost může být vysvětlena například větší bioakumulací PBDE v mateřském mléce [10]. Zajímavá studie byla zpracována s pomocí pracovníků v továrně, která se zabývá demontáží počítačů. Studie byly provedeny přímo s pracovníky, kteří demontáž prováděli, dále s úředníky pracujícími v počítačových místnostech a uklízeči těchto místností. Nejvyšší průměrné koncentrace PBDE byly detekovány u demontážních pracovníků (26 ng/g lipidů), zatímco u zbývajících dvou skupin byly naměřeny hodnoty podstatně nižší, a to 4,1 ng/g lipidů u úředníků a 3,3 ng/g lipidů u uklízečů [25]. Bylo zjištěno, že BDE se může do krevního oběhu člověka dostat i při cestování letadlem [56].

#### **2.5.4.3 Vzorky mateřského mléka**

Podobně jako PCB lze pochopitelně i PBDE detekovat v mateřském mléce. Na základě zjištěných hladin PBDE je možné posoudit míru zatížení organismu. Bylo realizováno a následně publikováno mnoho studií, v rámci kterých byly hodnoty PBDE v mateřském mléce zkoumány. V roce 1988 byla zjištěna přítomnost některých kongenerů PBDE ve vzorcích mateřského mléka odebraného 25 německým matkám. Hodnoty PBDE se v těchto vzorcích pohybovaly v rozmezí 0,6 – 11 ng/g lipidů [30]. Jiná studie, provedená o deset let později ve Švédsku (Uppsala), byla zaměřena na hodnocení vzorků mateřského mléka odebraných 39 kojícím matkám. V tomto případě byly identifikovány kongenery BDE 47, 99, 100, 153 a 154 a jejich průměrná koncentrace činila 4,4 ng/g lipidů. Nejvíce, a to 55 % z celkového množství, byl zastoupen kongener BDE 47. Součástí této studie byla také dotazníková akce, která prokázala spojitost mezi kouřením a hladinou PBDE v mateřském mléce, zatímco věk, konzumace ryb, alkoholu nebo frekvence používání počítačů neměla na hladinu PBDE přímý vliv. Studie zpracované v několika posledních letech prokázaly přítomnost PBDE

v mateřském mléce v Kanadě (2,6 – 19 ng/g lipidů) [40], ve Finsku (0,88 – 5,9 ng/g lipidů) [41] a v Japonsku [42].

### **2.5.5 Výskyt PBDE v rybách**

Sladkovodní ryby jsou významným bioindikátorem zátěže životního prostředí PBDE. Tyto kontaminanty se z odpadních vod dostávají zejména do vodního ekosystému a následně se pak akumulují nejen v kalech a sedimentech, ale zejména v rybách [10]. Při analýze lososů z oblasti severní Patagónie, v Čile, byly v roce 2009 prokázány nejvyšší koncentrace PBDE, a to v hodnotách až 1 046 pg/g lipidů [29]. Jedna z nejvyšších koncentrací PBDE v rybách vůbec byla zjištěna v roce 2000 v USA, kdy ve vzorku kapra, odebraného v řece pod průmyslovou oblastí, ve které se nacházela celá řada textilních a dalších továren, byla prokázána koncentrace až 57 000 ng/g lipidů [34]. Obecně lze na základě výsledků provedených studií konstatovat, že nejvyšší úroveň kontaminace PBDE se vyskytuje u ryb odebraných z vodního ekosystému v blízkosti velkých továren a průmyslových podniků. Nejvyšší hladina je potom detekována u vzorků odebraných u továren, které se přímo zabývají výrobou nebo dalším zpracováním PBDE, především některé textilní továrny.

Mořské ryby jsou velmi často předmětem studií, neboť zastoupení PBDE v jejich tělech velmi dobře ukazuje, do jaké míry je mořský ekosystém zatížen PBDE [37].

### **2.5.6 Výskyt PBDE v ptácích**

Přítomnost PBDE byla zjištěna také ve vzorcích tkání orlovce říčního, u kterého byla zjištěná hladina PBDE 2 100 ng/g lipidů [29]. Zvýšená konzumace ryb, probíhající během migrace ptáků do Afriky, může být příčinou této poměrně vysoké hodnoty [10]. PBDE se nejvíce kumulují i ve svalovině, tucích, játrech nebo vejcích mořských ptáků. Velmi vysoké hodnoty PBDE byly prokázány u kormorána žijícího na pobřeží Velké Británie. Zjištěné koncentrace kongenerů BDE 47, 99, 100, 153 a 154 dosahovaly v jeho játrech až hodnot 300 – 6 400 ng/g lipidů.

## **2.6 Regulace PBDE**

Německo, Švédsko a Nizozemsko začaly jako první státy jednat v polovině osmdesátých a počátkem devadesátých let o zákazech tykajících se PBDE. Nakonec byly penta- a okta-kongenery zakázány ve státech Evropské unie, avšak až v roce 2004. Listina omezující nebezpečné látky v elektrických spotřebičích a příkaz o elektrických výrobcích (RoHS Directive) obsahovaly v červenci roku 2006 Deko-BDE na seznamu látek zakázaných pro

použití v elektrických spotřebičích [46], přestože tato látka dostala v říjnu roku 2005 výjimku od Evropské komise. Tato výjimka byla nakonec 1. dubna roku 2008 zrušena evropským soudním dvorem. Švédská vláda rovněž zakázala používání Deca-PBDE v textilu, nábytku a v různých kabelech, a to již v roce 2007. V USA došlo v některých státech k zákazu výroby a distribuce některých Penta- a Octa- kongenerů. Ve státech Miami a Washington platila až do konce roku 2008 výjimka povolující částečné využívání Deca-PBDE. Společnost Great Lakes Chemical Corporation, jediný výrobce komerčních směsí Penta- a DecaHBCD v USA, následně v roce 2004 výrobu těchto kongenerů ukončil. Ačkoliv již dochází k regulaci níže bromovaných PBDE, vystavení lidí negativnímu vlivu těchto látek bude probíhat ještě dlouhou dobu, a to pravděpodobně z důvodu jejich dlouhého poločasu rozpadu, dobré schopnosti bioakumulace a neustálé výrobě a používání některých kongenerů při výrobě některých produktů. Navíc je zde stále pokračující produkce Deca-BDE, která patrně rovněž přispěje k již existující zátěži životního prostředí a pravděpodobně bude sloužit jako zdroj níže bromovaných kongenerů [18].

## 2.7 Metody analytického stanovení

Výzkum a vývoj analytických metod pro stanovení PBDE se dostává do popředí zájmu až v posledních deseti letech, a to díky zvýšenému zájmu o jejich sledování. Z důvodu podobnosti PBDE s PCB jsou metody používané pro stanovení PCB použitelné také pro stanovení PBDE. Platí však, že metody, které jsou používány pro stanovení PBDE, jsou více citlivé a při jejich použití lze stanovit velmi nízké koncentrace analytů. Rovněž je důležité, že ke stanovení jednotlivých kongenerů, v závislosti na jejich fyzikálně – chemických vlastnostech, se musí přistupovat rozdílně, zejména u kongeneru 209. Extrakce vzorku je jednou z nejdůležitějších preanalytických postupů, a proto je třeba věnovat extrakci velkou pozornost. Většina analytických metod je využitelná pro stanovení níže bromovaných kongenerů, pro stanovení výše bromovaných (Okta a Dekkongenery) je jejich využití omezené. Při analýze DekkBDE může vzniknout velký problém s jeho citlivostí na světlo, především s jeho nestabilitou při vysokých teplotách, která je při plynové chromatografii požadována. Právě tato teplotní nestabilita je příčinou toho, co způsobuje, že tento analyt je dobrý retardátor hoření. Abychom se vyvarovali degradačním problémům, musí být vzorek při extrakci chráněn před UV zářením a v koloně plynového chromatografu pak udržujeme co nejnižší možnou teplotu. Pro analýzu sedimentů se používá mnoho různých separačních metod. Nejčastěji to jsou vzduchové sušení, následované dehydratací pomocí síranu sodného a následnou Soxhletovou extrakcí s použitím směsi hexanu a acetonu jako rozpouštědel [27].

## **2.7.1 Vzorkování**

S ohledem na stanovení PBDE se nejčastěji vzorkuje ovzduší, voda a půda. Toto vzorkování probíhá buď metodou pasivní, nebo aktivní. Pokud se stanovují PBDE ve tkáních člověka, odebírají se především vzorky krve, a to přímo ze žíly.

### **2.7.1.1 Vzorkování půd**

Půda je velmi variabilní prostředí s různorodými chemickými, fyzikálními a biologickými vlastnostmi, a proto nelze určit univerzální metodu na odběr vzorků. Před samotným odběrem musí být zpracován plán odběru, který obsahuje následující údaje: typ vzorku, čas odběru, perioda odběru, hloubka odběru, hmotnost vzorku, technika odběru, schéma, balení, způsob přepravy a uchování vzorku [28].

### **2.7.1.2 Vzorkování ovzduší**

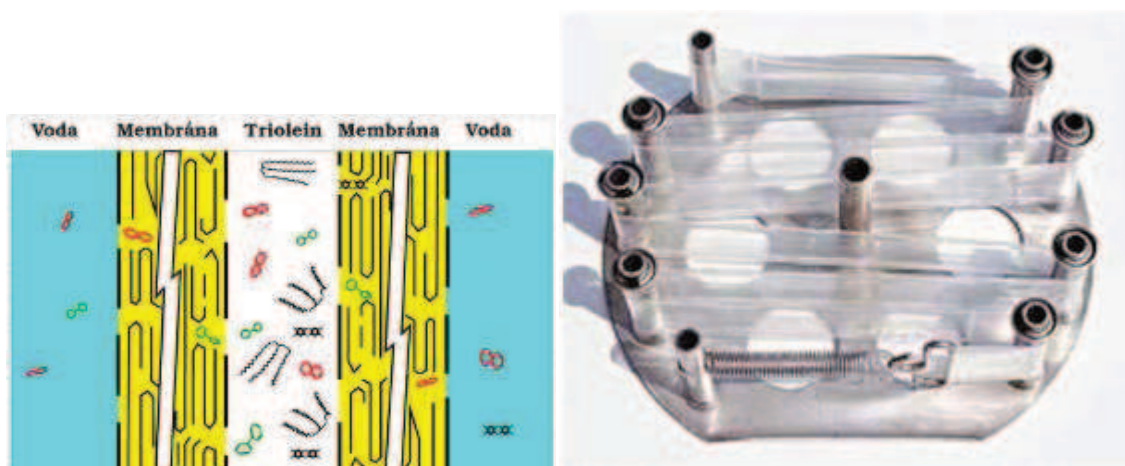
Pokud chceme přímo odebrat vzorek pro analýzu, je postupováno nejčastěji metodou aktivního vzorkování; při vzorkování je používán nejčastěji vzorkovač s pevným definovaným objemem, jako jsou např. vzorkovací vaky, vzorkovací nerezové kanystry nebo skleněné „myši“. Tato zařízení jsou sice velice jednoduchá na obsluhu, avšak velmi náročná na čištění před opakovaným odběrem. Aktivním nasátím je odebrán určitý objem vzorku, který je poté analyzován. Tento typ vzorkovačů je vhodný pro odběry předpokládaných vyšších koncentrací polutantů, nebo těch, které není zapotřebí před analýzou zakoncentrovat.

Dalším způsobem aktivního vzorkování PBDE v ovzduší může být aktivní vzorkování s využitím čerpadla. Vzduch je pomocí čerpadla nasáván buď přímo přes analyzátor, přes filtr nebo přes sorbent. Tento způsob vzorkování můžeme rozdělit na vzorkování kontinuální, semikontinuální a diskontinuální. Jako vzorkovací zařízení se používá vysokoobjemový vzorkovač nebo tzv. VAPS (Versatile air pollution sampler), neboli univerzální vzorkovač ovzduší. Vysokoobjemový vzorkovač má ve své hlavě sorbent, přes který je vzduch prosáván čerpadlem; množství prosátého vzduchu je přibližně 1 m<sup>3</sup> za sekundu. Po určité době je filtr vyjmut a zachycené polutanty jsou vhodným způsobem extrahovány. Na podobném principu pracuje také VAPS [39].

Vzorkování může probíhat také pasivně. Zde se používají vzorkovače typu PUF nebo POG. Ty mají ve své hlavě také sorbent, v tomto případě polyuretanovou pěnu, přes kterou proudí vzduch. Rozdílem oproti vzorkovačům aktivním je to, že zde vzduch proudí přes sorbent samovolně, a není nasáván žádným čerpadlem ani jiným zařízením. Tento typ vzorkování se používá spíše pro dlouhodobější sledování škodlivin. Množství vzduchu, který přejde přes vzorkovač, je přibližně 100 m<sup>3</sup> za měsíc [38].

### 2.7.1.3 Vzorkování vod

Nejčastěji používanou metodou pro pasivní vzorkování PBDE ve vodách je v současné době pasivní vzorkovač na bázi semipermeabilní membrány s lipidickou náplní (SPMD). Jako náplň se používá rybí tuk – triolein. Princip vzorkování je založen na průniku organických polutantů syntetickou membránou a na následném zakoncentrování v náplni vzorkovače; tento proces v podstatě napodobuje biokoncentraci lipofilních polutantů z vodného prostředí do tukové tkáně vodních živočichů, v praxi je tento vzorkovač někdy nazýván virtuální ryba. Vzhledem k hydrofobním vlastnostem membrán jimi pronikají pouze látky lipofilní, zatímco voda a polární sloučeniny jsou odpuzovány. Pro vzorkování se obvykle používá vzorkovací koš, který zabraňuje mechanickému poškození membrány. Tento koš s otvory, kterými volně proudí kapalina, je rozdělen do pater. Membrány jsou do pater umístěny pomocí háčků a pružin [39].



Obrázek 9 a) – struktura vzorkovače SPMD, 9 b) SPMD membrána umístěná ve vzorkovači [39]

### 2.7.2 Extrakce

Pro extrakci vzorků se v případě PBDE používá metoda mikrovlnné extrakce, ultrazvukové extrakce, tlaková extrakce rozpouštědlem nebo klasická Soxhletova extrakce. Velké využití má, a to zejména v poslední době, metoda extrakce pevnou fází.

#### 2.7.2.1 Mikrovlnná extrakce – MAE

Ohřev je podporován mikrovlnami, tj. elektromagnetickým vlněním o frekvenci 300 MHz – 3 000 GHz. Běžně používaná frekvence je 2 450 MHz. Při záhřevu se molekuly s vysokou dielektrickou konstantou snaží orientovat ve vzniklém elektrickém poli; mění se tak rychle, že molekuly začnou vibrovat a v důsledku tření okolních molekul také zahřívají. Důležitý je výběr

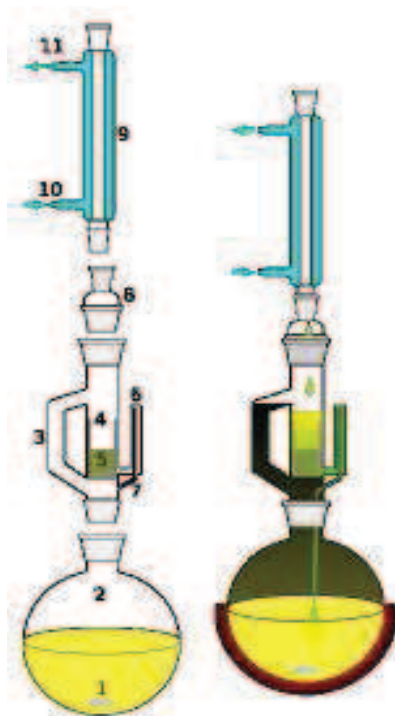
vhodné frekvence; pokud je příliš nízká, molekuly se stihnou zorientovat, pokud je však příliš vysoká, molekuly se ani nezačnou orientovat. Rozpouštědlo se tak začíná zahřívat až ke svému bodu varu a tak dojde k urychlení extrakce analytu. Extrakce probíhá za vysokých teplot a tlaků (200°C, 170 psi). Výhodou metody je výborná opakovatelnost, dále rychlost a malá spotřeba rozpouštědel [35]. K extrakci je využíváno rozpouštědlo s nízkou dielektrickou konstantou. Vzorek, který obsahuje zjišťované analyty, absorbuje mikrovlny. Lokální ohřátí pak způsobuje, že analyty jsou extrahovány do okolního chladného rozpouštědla, což umožní stanovovat i tepelně labilní látky [48].



Obrázek 10: Mikrovlnná trouba Multi wave 3000, Anton Paar [46]

### 2.7.2.2 Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakce je další extrakční metodou používanou při izolaci PBDE ze vzorků. Vzorek se umístí do Soxhletovy extrakční patrony, tvořené tvrzeným filtračním papírem, případně sklo s fritou místo dna. Patrona je umístěna do Soxhletovy aparatury; zde rozpouštědlo po zahřátí na svůj bod varu kondenzuje a odkapává zpět do patrony, kde vymývá analyty a vrací se s nimi do varné baňky, kde se opět odpařuje. Jako rozpouštědlo se používá směs hexanu s acetonem [34]. Maximální teplota je zde omezena teplotou rozpouštědla. Výhodou této metody je její vysoká výtěžnost, která je však velmi pomalá, a proto bývá často nahrazována tak zvanou vysokotlakou Soxhletovou extrakcí [35].



Obrázek 11: Soxhletův extraktor [31]

### 2.7.2.3 Extrakce pevnou fází – SPE

Extrakce pevnou fází (Solid phase extraction – SPE) je jednou z neúčinnějších metod, používaných pro rychlou a selektivní extrakci vzorku. Podstatou této metody je zachycení molekul látky na tuhém sorbentu, přes který protéká vzorek. Mezi výhody této metody proti tzv. klasické extrakci v systému kapalina – kapalina, patří především dobrá selektivita a zejména úspora organických rozpouštědel. SPE lze snadno automatizovat a navázat na další instrumentální metody.

SPE je velmi jednoduchá technika, v principu pracuje takto:

- Kapalným vzorkem je veden přes SPE kolonku a sloučeniny jsou ze vzorku zachyceny materiálem sorbentu v koloně
- Nežádoucí příměsi mohou být z kolonky selektivně odstraněny promytím správně zvolenými rozpouštědly
- Nakonec mohou být z kolonky žadoucí analyty znovu získány elučním rozpouštědlem, a to v podobě vysoce čistého extraktu. Tento extrakt má potom podstatně vyšší koncentraci, než měl vzorek původní.

Sorbenty jsou tvořeny částicemi o velikosti v průměru 50  $\mu\text{m}$  a kladou odpor protékající kapalině. Jsou umístěny v kolonce a uzavřeny fritami z polyetylenu, případně oceli nebo polytetrafluorethylenu.

*Postup při SPE:*

Obvyklý postup se skládá z šesti základních kroků:

1. Příprava vzorku před extrakcí
2. Solvatace kolonky
3. Předrovnovážná úprava kolonky
4. Aplikace vzorku
5. Promývání kolonky
6. Eluce analytu z kolonky.

SPE se s výhodou používá pro PBDE z důvodu, že je nutné vzorky s poměrně nízkou koncentrací PBDE vhodně zakoncentrovat. Bez zakoncentrování bychom často zůstali pod detekčními limity. Sorpce PBDE se často provádí (obdobně jak u PCB) na kolonce s Florisilem jako sorbentem. Zachycené PBDE se poté eluují isooktanem a analyzují se zejména plynovou chromatografií s detektorem elektronového záchytu [36].



Obrázek 12: zařízení pro SPE [47]

#### **2.7.2.4 Ultrazvuková extrakce**

Jedná se o analytickou metodu, která podstatně urychluje a zjednodušuje zpracování vzorků [33]. Při průchodu prostředím způsobuje ultrazvuk expanzi a stlačování molekul matrice. V kapalinách při této expanzi dochází k vytvoření tlaku, který v nich následně podporuje vznik bublin a dutin. Samotný vznik těchto útvarů však není pro vlastní využití ultrazvuku tak významný, protože v těchto útvarech nedochází k přenosu vlnění, ale důležitý je jejich zánik. Celý proces, kdy dochází ke vzniku bubliny, jejich růstu a posléze implozi, trvá asi 400  $\mu\text{s}$ . Protože bubliny a dutiny nemohou účinně absorbovat energii ultrazvuku, dochází k jejich implozi. Rychlé stlačení plynů a par uvnitř dutin potom způsobí vznik volných radikálů a jiných sloučenin. Přítomnost pevné látky v kapalině způsobuje při průchodu ultrazvukových vln asymetrický rozpad bublin v okolí pevné látky, čímž v kapalině vzniká proudění. Tyto proudy jsou velmi rychlé; nárazy umožňují rychlý průnik rozpouštědla do vzorku. Rychlost kapaliny, přicházející k povrchu pevné látky, může být až  $400 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ , a proto je účinek na povrch látky velmi silný. V praxi jsou používány dva typy zařízení pro ultrazvukovou extrakci a to ultrazvukové lázně a sondy [43].



Obrázek 13: Ultrazvuková lázeň [44]

#### **2.7.2.5 Tlaková extrakce rozpouštědlem – PSE**

Tlakem podporovaná extrakce je technika přípravy vzorku, která kombinuje zvýšenou teplotu a tlak ve spojení s kapalnými rozpouštědly, a to k dosažení efektivní a rychlé extrakce

analytu z pevného vzorku. Vzorek je umístěn do extrakční patry, ve které probíhá extrakce, nejčastěji organickým rozpouštědlem. Teploty se pohybují od teplot pokojových do 200 °C a extrakce probíhá při relativně vysokém tlaku (od 4 do 20 MPa). Při zvyšující se teplotě se rovněž zvyšuje difúzní rychlost, prostupnost hmoty a rozpustnost analytu, klesá viskozita a povrchové napětí rozpouštědla. Tyto změny zajišťují podstatně lepší kontakt analytu s rozpouštědlem a zlepšují extrakci, která tak může být dosažena rychleji a s využitím menšího množství rozpouštědla, v porovnání s klasickými metodami. Vysoký tlak zatlačuje rozpouštědlo do pórů matrice vzorku a také udržuje rozpouštědlo v kapalném skupenství při dané teplotě. Optimalizace extrakčního procesu má za následek vytvoření metody nejvhodnější pro extrakci sledovaných látek z daného materiálu. Optimalizovat můžeme následující parametry: množství a skladba vzorku, typ, průtok a objem rozpouštědla, teplota, tlak, extrakční doba a počet cyklů. Běžně se optimalizace provádí změnou jednoho z proměnných parametrů, ostatní zůstávají konstantní [43].



Obrázek 14: one-PSE, přístroj pro zrychlenou extrakci [45]

#### 2.7.2.6 Superkritická fluidní extrakce

Superkritická fluidní extrakce je metoda využívající k extrakci analytů z matrice oxid uhličitý v superkritickém stavu (teplota >31°C a tlak >73 atm). V tomto stavu má CO<sub>2</sub> vlastnosti kapaliny, což poskytuje ideální podmínky pro rychlé extrakce, s maximální výtěžností. Regulací tlaku a teploty lze měnit extrakční sílu a hustotu superkritické kapaliny. Tím se dosahuje vlastností organických rozpouštědel v rozsahu od chloroformu, přes dichlormetan až po hexan. Variabilní síly rozpouštědla můžeme využít pro širokou škálu aplikací, jakými jsou čištění, extrakce, frakcionace nebo rekrystalizace širokého spektra látek.

Protože je CO<sub>2</sub> nepolární, přidává se při extrakci polárních látek k superkritické kapalině polární rozpouštědlo (tzv. modifikátor). Vhodnou kombinací hodnot tlaku/ teploty/ modifikátoru může superkritický CO<sub>2</sub> rozpustit širokou oblast polárních i nepolárních sloučenin [50].



Obrázek 15: Příklad přístroje Spe-ed SFE-2 pro simultánní extrakci dvou vzorků [50]

### 2.7.3 Přečištění vzorku

Po extrakci analytu z matrice musí dále dojít k jeho přečištění, protože společně s cílovými analyty dochází ke koextrakci velkého množství dalších látek z matrice. Ty mohou negativně ovlivnit vlastní analýzu. Mezi látky, které by mohly stanovení ovlivnit, patří zejména lipidy, přírodní barviva a huminové látky, které mohou kontaminovat kolonu nebo také nástříkový prostor plynového chromatografu. Dále může docházet ke koeluci kontaminantů s cílovými analyty, což může vést k falešně pozitivním výsledkům nebo k nadhodnocení skutečné koncentrace analytu. Pro odstranění těchto látek se používají různé metody, mezi něž patří reextrakce do jiného rozpouštědla nebo čištění na vhodném sorbentu. K odstranění některých látek lze použít kyselou hydrolýzu pomocí koncentrované kyseliny sírové [48]. Viditelné nečistoty je možné odstranit pomocí klasické filtrace přes skládaný filtrační papír, zakoncentrované vzorky lze přefiltrovat přes mikrofiltr a balastních látek se lze také zbavit pomocí sloupcové chromatografie.

#### 2.7.3.1 Adsorpční kapalinová chromatografie

Tato metoda je založena na schopnosti látek různě se v roztoku adsorbovat na povrchu pevné fáze – adsorbentu. Jako adsorbenty jsou nejčastěji využívány zrnité materiály na bázi florisilu, silikagelu nebo oxidu hlinitého. Tyto látky jsou pro použití jako adsorbenty vhodné zejména pro jejich svůj velký povrch, který zajišťuje dostatečné množství pórů. Chromatografie probíhá ve dvou stupních; v prvním dojde k adsorpci látek na adsorbent v závislosti na jejich afinitě k danému sorbentu (látky s vyšší afinitou jsou zachyceny dříve), ve druhém stupni je látka desorbována prostou elucí, případně vytěsněním roztokem látky,

kteřá má k adsorbentu vyšší afinitu než látka navázaná [53]. Velmi důležitá je také volba mobilní fáze. Ta nesmí mít příliš vysokou viskozitu, aby nekladla odpor proti převodu hmoty a aby protékala kolonou při určitém tlaku a rychlosti. Mobilní fáze také nesmí chemicky narušovat nebo dokonce vymývat fázi stacionární a je charakterizována svou eluční silou. Čím je eluční síla vyšší, tím lépe se adsorbuje na stacionární fázi a lépe a rychleji eluuje složky na ní zachycené. Při přečistění extraktu obsahujícího PBDE, je jako mobilní fáze nejčastěji používán n – hexan, a to ve směsi s dichlormethanem [54].

#### **2.7.4 Analýza, separace**

Pro separaci a analýzu PBDE ve složkách životního prostředí jsou nejčastěji využívanými metodami plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu (GC/ECD), případně spojení plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem, který zde slouží jako detektor (GC/MS). Při spojení GC/MS se využívá negativní chemické ionizace (NCI) analytu nebo elektronové ionizace (EI) [2].

##### **2.7.4.1 Plynová chromatografie**

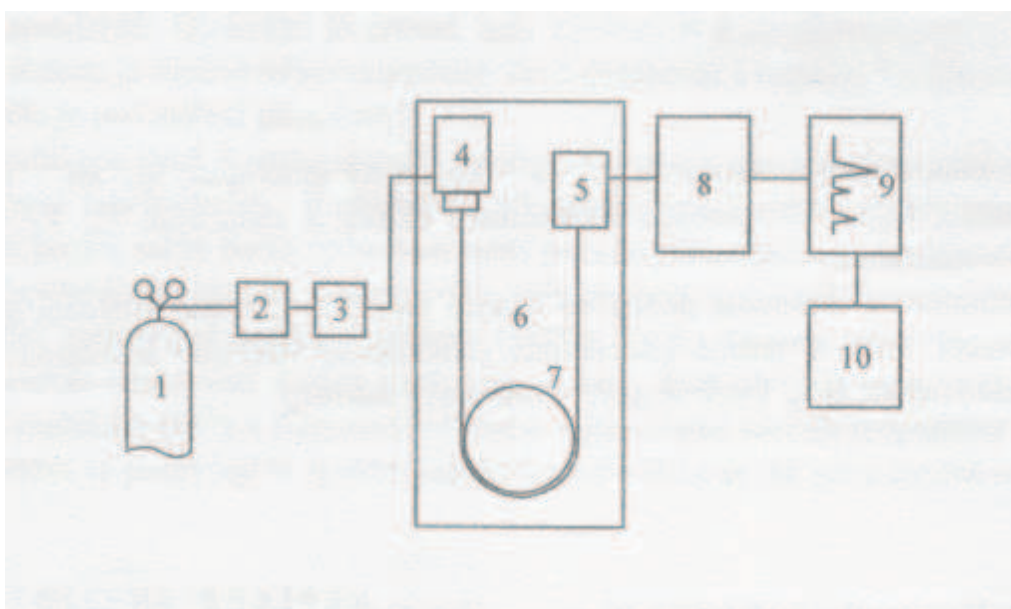
Plynová chromatografie je nejčastěji používanou separační metodou pro zjištění PBDE ve složkách životního prostředí. Výhodná pro separaci PBDE je zejména z důvodu jejich vysoké těkavosti. Metoda je založena na rozdělování složek mezi dvě fáze, fázi stacionární a mobilní. V plynové chromatografii je mobilní fází nosný plyn.

Plynový chromatograf se skládá z následujících součástí.

- Zdroj nosného plynu: tlaková láhev obsahující dusík, helium nebo argon (u PBDE nejčastěji Helium). Úkolem plynu je unášet vzorek kolonou.
- Čistící zařízení: zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu, kde se zejména odstraňují stopy reaktivního kyslíku.
- Regulační systém: zajišťuje stálý, případně programově se měnící průtok nosného plynu.
- Dávkořač: slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Nástřik může být proveden třemi způsoby: přímo do kolony, pomocí děliče toku, nebo bez děliče toku. Pro PBDE se používá nástřik bez děliče toku, protože je zapotřebí relativně velké objemy (0,5 – 5 µl) upravit pro stopovou analýzu.
- Kolona: je ta část chromatografu, ve které je umístěna stacionární fáze; zde dochází k separaci složek. V plynové chromatografii používáme dnes již výhradně

kapilární kolony (využívají své vnitřní stěny jako nosiče stacionární fáze). Kolony náplňové (trubice naplněné sorbentem) se dnes používají pouze výjimečně, a to na analýzu plynů nebo velkých objemů kapalných vzorků.

- Termostat: zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, aby byl vzorek po celou dobu analýzy udržen v plynném stavu.
- Detektor: slouží k detekci látek v nosném plynu, tzn., že signalizuje jejich přítomnost. U PBDE (směsí) je jako detektor nejčastěji používán hmotnostní spektrometr. V plynovém chromatografu dojde k separaci složek, které jsou pak pomocí hmotnostního spektrometru analyzovány.
- Signál z detektoru vyhodnocuje počítač s příslušným vyhodnocovacím softwarem.



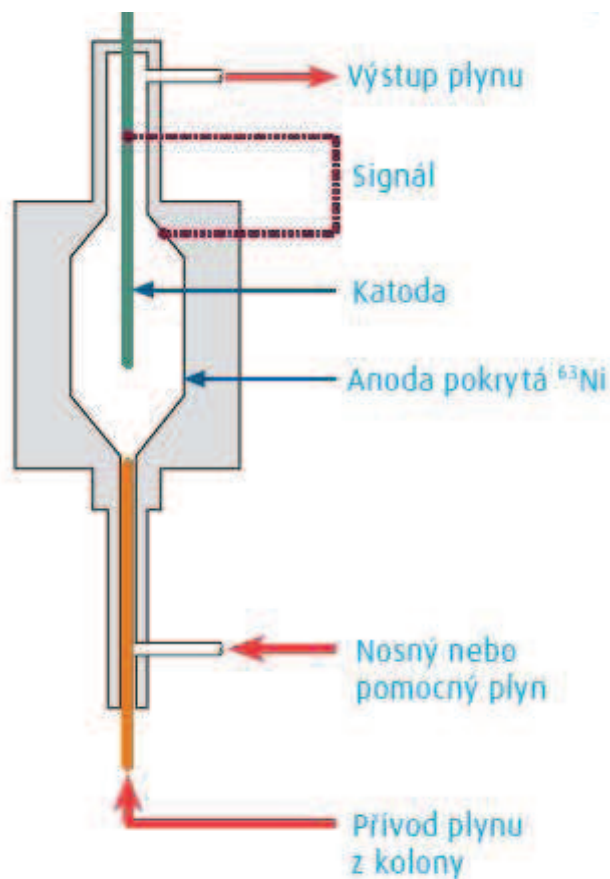
1: tlaková láhev s nosným plynem, 2, 3: regulátory tlaku a průtoku, 4: injektor, 5: detektor, 6: termostat, 7: kolona, 8: zesilovač signálu, 9,10: pc s vyhodnocovacím zařízením

Obrázek 16: Plynový chromatograf [58]

#### 2.7.4.2 Detektor elektronového záchytu

V detektoru s elektronovým záchytem se k ionizaci nosného plynu používá beta zářič, kterým je tritium nebo  $^{63}\text{Ni}$ . Rychlé beta částice generované radioaktivním zdrojem se srážejí s molekulami nosného plynu nebo stanovované látky. Vlivem těchto ionizačních nárazů vznikají volné pomalé elektrony, které vytvářejí rovnoměrný měřitelný proud. Jestliže analyzovaný plyn odcházející z chromatografické kolony obsahuje organické molekuly s

elektronegativními funkčními skupinami, jakými jsou halogenové skupiny, skupiny fosforu a dusíku, jsou elektrony zářiče zachyceny a měřený ionizační proud se sníží. Pokud porovnáme tento signál se signálem nosného plynu bez vzorku stanovované látky, je snížení elektronového toku přímo úměrné množství elektronegativní složky stanovované látky ve vzorku [49].



Obrázek 17: Detektor elektronového záchytu [49]

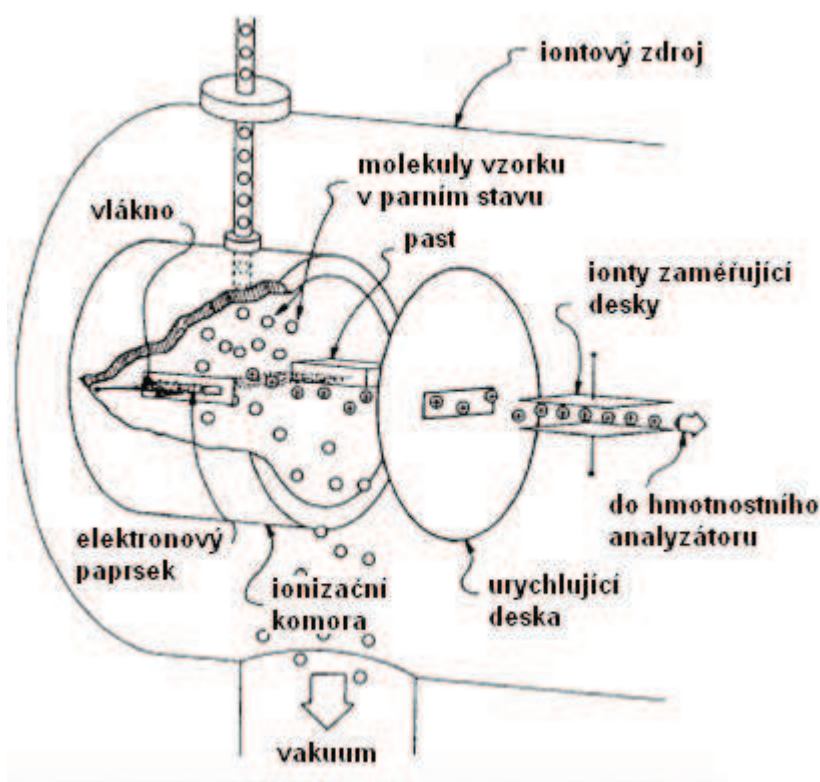
### 2.7.4.3 Hmotnostní spektrometr jako detektor v plynové chromatografii

Hmotnostní spektrometrie je metoda založená na určování hmotnosti iontů, přičemž zde dochází k využití působení magnetického, nebo elektrického pole. Hmotnostní spektrometr se skládá ze základních 5 částí:

1. Iontový zdroj – vytváří ionty z elektricky neutrálních molekul
2. Analyzátor – dělí vzniklé ionty na základě poměrů jejich hmotností a nábojů ( $m/z$ )
3. Detektor – detekuje ionty vycházející z analyzátoru a převádí je na elektrický signál

4. Datový systém – zpracovává signál detektoru a zajišťuje celkovou kontrolu a řízení celého systému
  5. Vakuový systém – zajišťuje udržení dostačujícího vakua v hmotnostním spektrometru.
- Techniky ionizace používané při spojení GC – MS

*Elektronová ionizace (EI):* je pravděpodobně nejvýznamnější ionizační technikou hmotnostní spektrometrie. Při této technice jsou neutrální molekuly v plynném stavu ionizovány elektrony, které jsou emitovány žhaveným rheniovým nebo wolframovým vláknem (filament), přičemž potřebnou energii (zpravidla 70 eV) získají v elektrickém poli mezi vláknem a protielektrodou označovanou jako trap. Při přiblížení elektronu k neutrální molekule může dojít k vyražení elektronu z jejího elektronového obalu. V závislosti na charakteru srážky dojde k předání většího nebo menšího množství energie, což vede k fragmentaci ionizované molekuly. Vzhledem k velkému množství energie předávané při ionizaci je elektronová ionizace řazena mezi tzv. tvrdé fragmentační techniky.



Obrázek 18: Schéma elektronové ionizace [52]

*Chemická ionizace (NCI):* využívá stejného zařízení, jako ionizace elektronová, avšak ve zdroji je navíc přítomen reakční plyn, který je ve značném nadbytku vůči analyzované látce

(obvykle  $10^4:1$ ). Elektrony přednostně ionizují molekuly reakčního plynu za vzniku řady produktů, které následně vyvolávají ionizaci analyzovaných látek. Vzhledem k této skutečnosti je energie předávaná ionizovaným molekulám podstatně nižší, a proto dochází k fragmentaci v daleko menším rozsahu. To je důvodem, proč je tato technika řazena mezi tzv. měkké ionizační techniky. Nejčastěji využívaným plynem je methan.

- Analyzátoři

Analyzátoři slouží k dělení iontů podle poměrů jejich hmotností a nábojů ( $m/z$ ), k čemuž využívají řadu fyzikálních principů, tj. zakřivení dráhy jejich letu působením statického magnetického a elektrického pole, měření doby letu iontů urychlených na stejnou kinetickou energii, absorpci energie při cyklonálním pohybu v magnetickém a elektrickém poli nebo oscilaci ve střídavém elektrickém poli. Mezi nepoužívanější analyzátoři patří:

*Kvadrupolový analyzátor:* skládá se ze čtyř tyčí, z nichž jsou vždy dvě protilehlé tyče elektricky spojeny a na ně je vkládána kombinace stejnosměrného a střídavého napětí. Ionty, které vletnou do prostoru mezi tyčemi, začnou kroužit podle toho, jak jsou přitahovány a následně odpuzovány jednotlivými tyčemi. Kvadrupol funguje jako laditelný filtr: v jednom okamžiku pouze určitý poměr  $m/z$  prolétne kvadrupolem a dopadne na filtr. Jedná se o nízkorozlišovací detektor, který je schopný poskytnout jednotkové rozlišení v rozsahu přibližně do 2 kTh, případně do 4kTh.

*Iontová past:* jedná se o tříelektrodový systém s jednou elektrodou prstencovou a dvěma elektrodami krycími, které uzavírají vnitřní prostor pasti o objemu přibližně jednoho mililitru. Na prstencovou elektrodu je přiváděno RF napětí, které v prostoru pasti indukuje čtyřpólové elektrické pole. Na krycí elektrody je potom vložen pomocný RF potenciál. Současné iontové pasti mají hmotnostní rozsah až do desetitisíců Th a umožňují řazení až zhruba desítky stupňů MS za sebou. Iontová past se stala velmi oblíbeným analyzátořem zejména díky svým malým rozměrům, možnosti práce v tandemové hmotnostní spektrometrii a poměrně přijatelné ceně.

Analyzátor doby letu (TOF, Time of flight): je využíván již od roku 1946, kdy byl poprvé popsán. Princip jeho fungování je velmi jednoduchý: ionty, které jsou urychleny na stejnou kinetickou energii, letí letovou trubicí, ve které je vakuum a jejich hmotnost je zjištěna na základě jejich doby letu touto trubicí. Mezi jeho přednosti patří velmi jednoduchá konstrukce a prakticky neomezený hmotnostní rozsah.

Detektory: slouží k přeměně toku iontů na měřitelnou veličinu. Nejčastěji jsou k tomuto účelu používány elektronásobiče, které zesilují elektrony emitované při dopadu iontů vylétnutých z analyzátoru na konverzní dynodu pomocí kaskádových násobičů [51].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Použité laboratorní přístroje, zařízení, vybavení, software, standardy a chemikálie

##### 3.1.1 Zařízení pro přípravu a pro extrakci vzorků

- Analytické laboratorní váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko
- Rotační vakuová destilační odparka RVO Büchi, Rotavapor R-205 s vodní lázní B-490 a elektronickým řízením vakua V-800, Švýcarsko
- Laboratorní sušárna ULE 500, Memmert, Německo
- Mikrovlnná pec Multiwave 3000, Anton Paar, GmbH
- Ultrazvuková lázeň ultrasonic compact cleaner TESCON 4, Tesla
- Přístroj pro tlakovou extrakci rozpouštědlem one-PSE, Applied Separations, USA
- Skleněné kolony pro sloupcovou chromatografii
- Běžné laboratorní sklo a vybavení

##### 3.1.2 Plynový chromatograf

Plynový chromatograf Agilent technologies 6890N

- PTV inlet
- Automatický dávkovač HP 7683
- Nosný plyn dusík
- dva <sup>63</sup>Ni mikro-detektory elektronového záchytu ( $\mu$ -ECD), N<sub>2</sub> jako make-up plyn
- dvě paralelní kolony:
  - a. HT-8 (SGE, USA): 50 m x 0,22 mm i. d., 0,25  $\mu$ m tloušťka filmu stacionární fáze, 8% Phenyl Polycarborane-siloxane, (přední detektor)
  - b. DB-17ms (Agilent J&W, USA): 60 m x 0,25 mm i. d., 0,25  $\mu$ m tloušťka filmu stacionární fáze, (50% phenyl)-methylpolysiloxane, (zadní detektor)

### **3.1.3 Software pro získání a prezentaci naměřených výsledků**

- HPCORE Chemstation GC 6890N
- Microsoft Windows XP
- Microsoft Excel 2007
- Microsoft Word 2007
- Adobe Reader 9.3
- IrfanView
- Mozilla Firefox

### **3.1.4 Standardy, rozpouštědla a ostatní použité chemikálie**

#### **3.1.4.1 Standardy**

Standardy kongenerů byly k dispozici o koncentraci 50 µl/ml v isooktanu (Accu Standard, New Hawen, USA).

- BDE – 28
- BDE – 47
- BDE – 66
- BDE – 85
- BDE – 99
- BDE – 100
- BDE – 153
- BDE – 154
- BDE – 183

#### **3.1.4.2 Rozpouštědla**

- Dichlormethan HPLC (LAB – SCAN, UK), čistota 99%
- Diethylether (Lach – Ner, ČR), čistota 99%
- Aceton, p. a (Lach – Ner, ČR), čistota 99,9%
- Petrolether (MERCK, Německo), čistota 99%
- Isooktan (MERCK, Německo), čistota 99%
- n – hexan (MERCK, Německo), čistota 99%

### **3.1.4.3 Ostatní použité chemikálie**

- Silikagel (MERCK, Německo), velikost částic 3 – 8 mm
- Alumina (MERCK, Německo)
- Kyselina sírová 96%, p. a. (Lach – Ner, ČR)
- Mořský písek (Lach – Ner, ČR)
- Florisil 60 – 100 mesh (Sigma Aldrich, ČR)
- Síran sodný bezvodý, p. a. (Sigma Aldrich, ČR)
- Dusík (Messer, ČR)
- Vodík (>99,999%), (generátor Dominick Hunter 20H)

## **3.2 Postup stanovení**

Izolace vybraných vzorků PBDE z matric byla provedena třemi různými technikami; jednalo se o ultrazvukovou extrakci, mikrovlnnou extrakci a tlakovou extrakci rozpouštědlem. Získaný extrakt byl přefiltrován přes odtučňovou acetonovou vatu a vrstvu bezvodého síranu sodného a filtr byl následně propláchnut dalšími 25 ml rozpouštědla. Získaný extrakt byl odpařen na objem přibližně 1ml a přenesen na kolonu. Eluát z kolony byl znovu odpařen na odparce téměř do sucha a následně dosušen pod proudem dusíku. Obsah baňky byl rozpuštěn v 1 ml isooktanu a převeden do vialky, která byla umístěna do autosampleru plynového chromatografu. Stanovení jednotlivých kongenerů, tj. jejich identifikace a kvantifikace, bylo provedeno pomocí plynového chromatografu s detektorem elektronového záhytu (GC-ECD). Identifikace zjištěných analytů byla určena na základě porovnání retenčních časů neznámých analytů s retenčními časy standardů, koncentrace detekovaného analytu byla provedena na základě srovnání se standardy, a to metodou kalibrační křivky. Obsah veškerých zjištěných analytů byl přepočítán na procenta sušiny.

## **3.3 Postup vzorkování**

Ve všech případech byly odebírány vzorky půd. Na místě určeném pro vzorkování byl podle vzorkovacího plánu vytvořen čtverec o délce hrany 5 m. Odběr byl proveden z rohů čtverce, polovin stran, z průsečíku a polovin úhlopříček. Odebrané části vzorku byly homogenizovány a kvartací byl vzorek upraven na potřebnou hmotnost (přibližně 2 kg).

Vzorek byl umístěn do mikrotenových sáčků, které byly řádně uzavřeny. Odběr probíhal pomocí nerezové lopatky.

### 3.4 Postup úpravy vzorků

Vzorky půd byly po odebrání rozloženy na filtrační papír a vysoušeny minimálně dva dny při laboratorní teplotě. Ručně byly vybrány různé organické nečistoty, kameny a štěrk. Vzorek byl homogenizován a přesítován přes soustavu laboratorních sít (velikosti ok sít: 16, 4 a 2 mm). Frakce, která propadla sítím s oky 2 mm, byla použita pro další stanovení. Frakce zachycena na sítích byla mechanicky podrcena v třecí misce tloučkem a následně znovu přesítována. Frakce, která prošla sítím 2 mm, byla spojena s frakcí první; takto získaný vzorek byl použit pro další analýzu.

### 3.5 Stanovení sušiny

Stanovení sušiny bylo provedeno gravimetricky. Do exikátoru byla na dobu 2 hodin umístěna váženka včetně uzávěru. Po vyjmutí byla s přesností na desítitisíciny gramu určena jejich společná hmotnost. Do váženky byl navážen 1 g vzorku, opět s přesností na desítitisíciny gramu, váženka byla uzavřena a umístěna do laboratorní sušárny při teplotě 105 °C na dobu 4 hodin. Po vyjmutí ze sušárny byla vložena do exikátoru a po 4 hodinách byla zvážena. Po zvážení byla znovu umístěna do exsikátoru a převážena opět po 4 hodinách. Pokud se obě zjištěné hmotnosti rovnaly, bylo dosaženo konstantní hmotnosti a bylo přikročeno k výpočtu sušiny; pokud se hmotnosti lišily, byla váženka umístěna zpět do exikátoru a za 4 hodiny se přikročilo k dalšímu převážení.

$$\text{výpočet sušiny: obsah sušiny (\%)} = \frac{m \text{ vysušené}}{m \text{ nevysušené}} \cdot 100$$

Tabulka 5: Obsah sušiny analyzovaných vzorků

číslo vzorku	lokality	sušina (%)
1	Jundrov – půda	99,96
2	Jimramov – půda	99,98
3	Soutok Svratky a Svitavy – půda	99,99
4	Štěpánov nad Svratkou – půda pole	99,99
5	Štěpánov nad Svratkou – půda u řeky	99,97
6	Tišnov – půda	99,98
7	Veverská Bytíška – půda	99,99
8	Vír – půda z okolí přehradní nádrže	99,96
9	Brandýs nad Labem – půda po požáru panelového domu	99,98
10	Brandýs nad Labem – půda po požáru stodoly	99,99
11	Brandýs nad Labem – půda po požáru restaurace	99,98
12	Brno, Komárov – půda po požáru autovrakoviště	99,99
13	Brno, Ulice Nad Pisárkami – půda po požáru nepovolené skládky	99,99
14	Brno, ulice Havránkova – půda po požáru zahradního domku	99,97
15	Židlochovice – půda po požáru rodinného domu	99,99

### 3.6 Izolace analytů z matrice

Pro izolaci analytů z matric byly ověřovány tři extrakční metody, ze kterých byla vybrána metoda s nejvyšší výtěžností, která byla použita následně pro stanovení.

#### 3.6.1 Ultrazvuková extrakce

Navážka vzorku 30 g (s přesností na desítktisíciny gramu) byla kvantitativně převedena do extrakční baňky o objemu 250 ml. Do baňky bylo přidáno 60 ml rozpouštědla (směs hexan:petrolether v poměru 3:1), obsah baňky byl důkladně promíchán a baňka byla umístěna do extrakční lázně. Samotná extrakce probíhala po dobu 1 hodiny. Po skončení extrakce byl extrakt přefiltrován přes bezvodý síran, obsah baňky byl propláchnut dalšími 50 ml rozpouštědla a rovněž zfiltrován přes stejný filtr. Výtěžnost této extrakce byla v porovnání s dalšími dvěma nejvyšší, a proto byl tento extrakční způsob použit k samotnému stanovení.

Tabulka 6: Zhodnocení výtěžnosti ultrazvuku

kongener	reálný fortifikovaný vzorek (ng·ml <sup>-1</sup> )		výtěžnost (%)	
	kolona 1	kolona 2	kolona 1	kolona 2
28	46,9	47,9	93,8	95,8
47	45,7	49,1	91,4	98,2
66	49,1	44,3	98,2	88,6
100	46,6	43,9	93,2	87,8
99	44,3	51,6	88,6	103,2
85	39,9	49,7	79,8	99,4
154	46,6	44,1	93,2	88,2
153	45,7	47,7	91,4	95,4
183	48,9	42,6	97,8	85,2
<b>suma (průměr)</b>	<b>413,7</b>	<b>420,9</b>	<b>91,9</b>	<b>93,5</b>

Vzorek byl vždy fortifikován směsným standardem devíti kongenerů BDE; každý o koncentraci 50 ng·ml<sup>-1</sup>. Společně se vzorky byl změřen směsný standard BDE o koncentraci 50 ng/ml, který byl připraven přímo do vialky (25 µl standardu 2 000 ng/ml + 975 µl isooktanu). Výtěžnost tohoto standardu byla brána jako 100 % a výtěžnosti metody byly podle této výtěžnosti dopočítány. Byly měřeny dva vzorky a v tabulce jsou prezentovány jejich průměrné hodnoty.

### 3.6.2 Mikrovlnná extrakce

Navážka vzorku 0,5 g (s přesností na desítitisíciny gramu) byla vložena do extrakční patrony a bylo k ní přidáno 30 ml rozpouštědla (hexan:aceton v poměru 7:1). Patrona byla umístěna do mikrovlnné pece, kde proběhla samotná extrakce. Po skončení extrakce byl extrakt přefiltrován přes bezvodý síran sodný. Výtěžnost této extrakční metody byla velmi malá, a proto nebyl tento postup pro stanovení reálných vzorků použit.

- Podmínky MAE:

navážka vzorku: 0,5 g

rozpouštědlo: hexan:aceton v poměru 7:1

doba extrakce: 10 minut

teplota extrakce: 90 °C

doba zchlazení: 20 minut

Tabulka 7: Zhodnocení výtěžnosti MAE

kongener	reálný fortifikovaný vzorek (ng·ml <sup>-1</sup> )		výtěžnost (%)	
	kolona 1	kolona 2	kolona 1	kolona 2
28	0	20,8	0	42
47	24,1	22,1	48	44
66	20,1	17,5	40	35
100	17,2	18,6	34	37
99	19,3	22,7	39	45
85	0	7,9	0	16
154	21,3	22,2	43	44
153	20,6	24,6	41	49
183	22,5	23,8	45	48
<b>suma (průměr)</b>	<b>145,1</b>	<b>180,2</b>	<b>32,2</b>	<b>40,0</b>

### 3.6.3 Tlaková extrakce rozpouštědlem

Bylo naváženo 10 g vzorku; toto množství bylo důkladně promícháno s 10 g hydromatrix. Vzniklá směs byla převedena do kovové extrakční patrony, která byla umístěna do extraktoru. Extrakce probíhala pomocí směsi rozpouštědel hexan:petrolether, smíchaných v poměru 9:1. Extrakt byl jímán do skleněné vialky a následně přefiltrován přes bezvodý síran sodný. Výtěžnost této extrakční metody byla opět nízká, a proto nebyla pro samotné stanovení použita.

- Podmínky PSE:

Navážka vzorku: 10 g

Extrakční činidlo: hexan:petrolether v poměru 9:1

Teplota v extrakční patroně: 125 °C

Tlak v extrakční patroně: 120 bar

Počet cyklů: 2

Doba statické fáze: 5 minut

Proplach patrony: 20 s a 2 minuty sušení dusíkem

Tabulka 8: Zhodnocení výtěžnosti PSE

kongener	reálný fortifikovaný vzorek (ng·ml <sup>-1</sup> )		výtěžnost (%)	
	kolona 1	kolona 2	kolona 1	kolona 2
28	8,6	15,6	17,2	31,2
47	13,4	19,3	26,8	38,6
66	29,8	17,4	59,6	34,8
100	18,6	19,9	37,2	39,8
99	12,5	16,6	25	33,2
85	11,5	15,9	23	31,8
154	24,7	28,8	49,4	57,6
153	17,8	14,3	35,6	28,6
183	17,9	12,6	35,8	25,2
<b>suma (průměr)</b>	<b>154,8</b>	<b>160,4</b>	<b>34,4</b>	<b>35,6</b>

Z tabulky číslo 8 vyplývá, že výtěžnost použité PSE metody byla nedostatečná a pro další použití nebyla vhodná. Hodnoty průměrné výtěžnosti se pohybují přibližně ve stejných hladinách, jako tomu bylo u MAE.

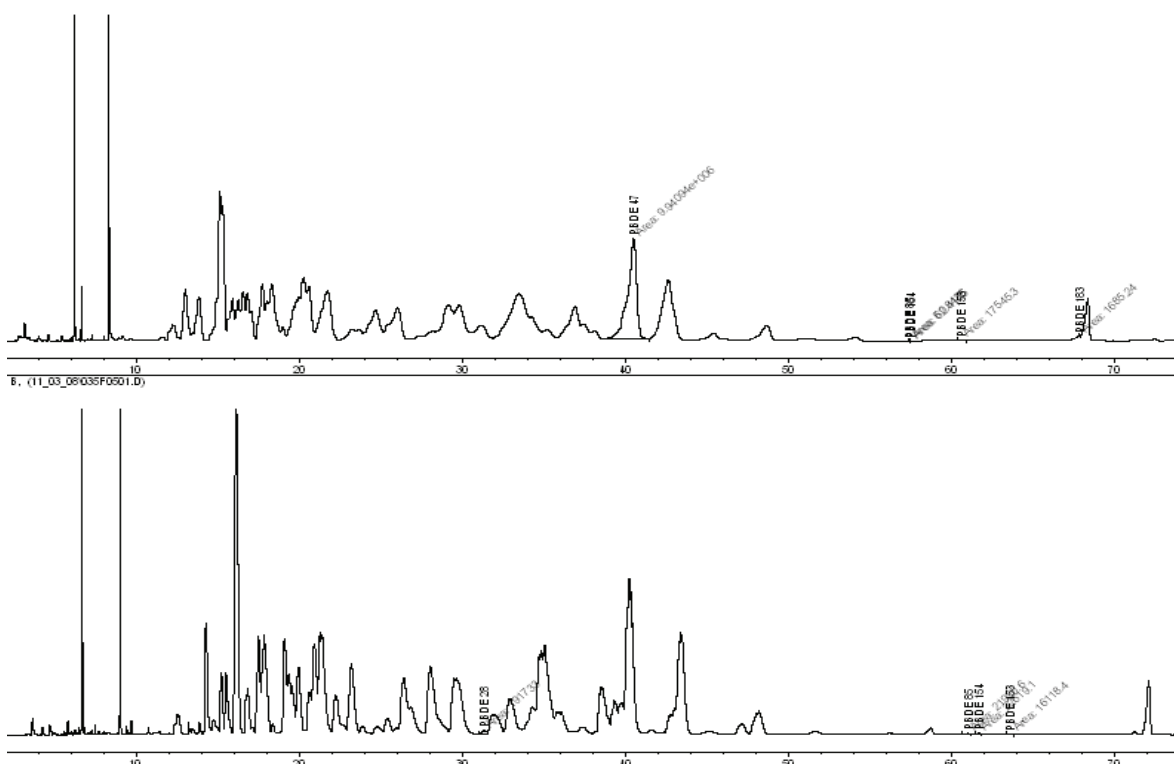
### 3.7 Čištění extraktů

#### 3.7.1 Čištění adsorpční kolonovou chromatografií

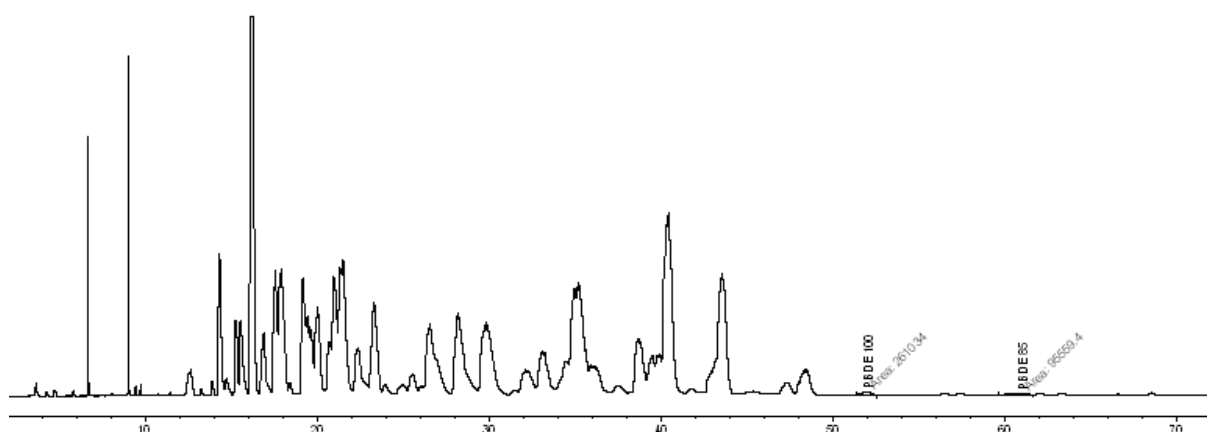
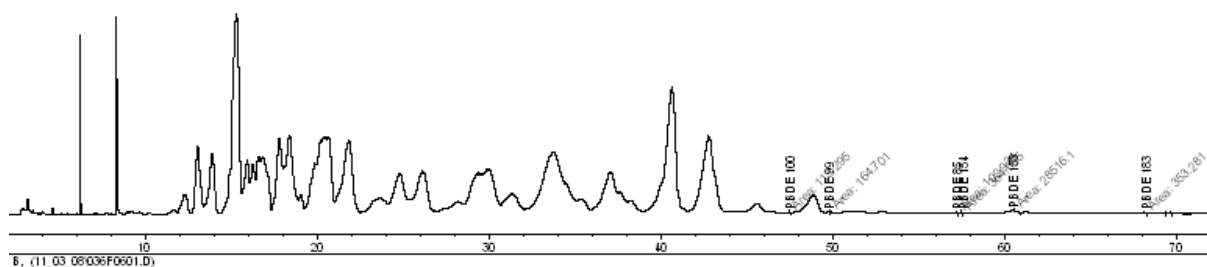
Skleněná kolona opatřená kohoutem byla uchycena do stojanu a do jejího hrdla byla vsunuta odtučnělá acetonová vata. Kolona byla naplněna hexanem a poté do ní byly, za stálého poklepávání, vsypány sorbenty florisil a silikagel. Extrakt, odpařený na objem 1 ml, byl kvantitativně přenesen na kolonu a nechal se vsáknout. Kolona byla poté promývána 80 ml elučního činidla hexan:dichlormethan v poměru 3:1 a eluát byl jímán do odpařovací baňky o objemu 100 ml. Sorbenty použité na kolonovou chromatografii byly připravovány následujícím způsobem: florisil – aktivován po dobu 4 hodin v muflové peci při teplotě 650 °C, silikagel – aktivován po dobu 2 hodin při teplotě 120 °C. Ze začátku byla jako rozpouštědlo použita směs hexan:dichlormethan v poměru 9:1, avšak později došlo k výměně za jinou směs, a to hexan:dichlormethan v poměru 3:1, z důvodu větší eluční síly tohoto rozpouštědla; v důsledku toho bylo také dosaženo vyšší výtěžnosti celé metody.

### 3.7.2 Čištění koncentrovanou kyselinou sírovou

Pro silně znečištěné extrakty nebylo přečištění kolonovou chromatografií dostatečné a bylo nutné použít ještě další způsob přečištění. Jako vhodný způsob se jevila tzv. kyselá hydrolýza s použitím 96% kyseliny sírové. K přefiltrovanému extraktu bylo do vialky přidáno odpovídající množství kyseliny sírové (v poměru extrakt:kyselina 9:1). Obsah vialky byl po dobu 5 minut protřepáván; po oddělení fází byla spodní vrstva kyseliny opatrně odebrána pomocí Pasteurovy pipety. Tento postup byl opakován, dokud nebyla odebíraná kyselina čirá. Extrakt byl následně znovu přefiltrován přes vrstvu bezvodého síranu sodného. Toto přečištění bylo použito pouze pro velmi znečištěné vzorky (zejména pro vzorky z požářišť), neboť vzorky půd a sedimentů stačilo přefiltrat pouze kolonovou chromatografií. I přes to, že odebíraná kyselina byla čirá, bylo na chromatogramu zřejmé velké množství tzv. balastních látek, které měly při průchodu kolonou stejný retenční čas, jako některé sledované kongery, a proto znemožňovaly jejich identifikaci. Z tohoto důvodu se použití této metody pro přečištění ukázalo jako nevhodné. Při porovnání chromatogramů na obrázcích 20 a 21 je patrné, že kyselá hydrolýza neměla na odstranění nečistot žádný podstatný vliv – znečištění je na obou chromatogramech takřka totožné. Při porovnání koncentrací BDE v obou vzorcích byla mírně vyšší koncentrace stanovena ve vzorku, který nebyl přečištěn. Z toho lze usoudit, že při odběru kyseliny od extraktu Pasteurovou pipetkou mohlo dojít i k odebrání malé části extraktu, čímž dochází ke snížení výtěžnosti metody.



Obrázek 19: Chromatogram vzorku z autovrakoviště v Brně, který nebyl přečištěn kyselou hydrolýzou



Obrázek 20: Chromatogram vzorku z autovrakoviště v Brně přečištěného koncentrovanou kyselinou sírovou

### 3.8 Ověření výtěžnosti metody

Před samotným měřením reálných vzorků byla ověřena výtěžnost metody. Bylo odebráno 10 vzorků (každý o hmotnosti 30 g s přesností na desítitisíciny) mořského písku. Pět vzorků bylo fortifikováno 5  $\mu$ l (10 ng) a pět 25  $\mu$ l (50 ng) směsného standardu BDE. Všechny vzorky byly zpracovány předem optimalizovanou metodou a změřeny na plynovém chromatografu. Dále byl do vialky připraven roztok 5  $\mu$ l směsného standardu BDE a 995  $\mu$ l isooktanu a roztok 25  $\mu$ l směsného standardu a 975  $\mu$ l isooktanu. Vialky byly umístěny do autosampleru plynového chromatografu a u vzorků byl zjišťován obsah BDE. Po analýze těchto vzorků byly chromatogramy zpracovány a plochy píků změřených BDE byly brány jako 100% možná výtěžnost. Po analýze vzorků písku byly zpracovány rovněž jejich chromatogramy a plochy píků naměřených BDE byly porovnány s píky standardu. Tímto porovnáním byla získána výtěžnost pro každý z pěti vzorků.

Tabulka 9: Zhodnocení výtěžnosti metody pro přídavek 10 ng směšného standardu PBDE

	10 ng				
kongener	výtěžnost standardu (ng·ml <sup>-1</sup> )	průměr 5ti měření (ng·ml <sup>-1</sup> )	průměrná výtěžnost (%)	odchylka (ng)	odchylka (%)
28	10,189	9,976	97,9	0,6	6,0
47	11,435	10,571	92,4	1,0	8,9
66	13,945	14,265	102,3	1,0	7,3
100	10,908	9,946	91,2	0,6	5,7
99	13,341	12,615	94,6	0,4	3,3
85	13,563	12,833	94,6	1,0	7,7
154	15,923	15,150	95,1	1,5	9,3
153	11,219	10,654	95,0	1,1	9,4
183	11,653	11,580	99,4	0,7	6,4

Tabulka 10: : Zhodnocení výtěžnosti metody pro přídavek 50 ng směšného standardu PBDE

	50 ng				
kongener	výtěžnost standardu (ng·ml <sup>-1</sup> )	průměr 5ti měření (ng·ml <sup>-1</sup> )	průměrná výtěžnost (%)	odchylka (ng)	odchylka (%)
BDE 28	38,875	36,441	93,7	0,7	6,3
BDE 47	40,916	35,211	86,1	0,5	5,4
BDE 66	38,557	39,157	101,6	1,3	7,6
BDE 100	45,726	38,386	83,9	0,9	4,9
BDE 99	39,741	39,844	100,3	0,2	2,6
BDE 85	30,683	33,300	108,5	0,5	3,9
BDE 154	40,582	36,792	90,7	2,6	9,3
BDE 153	34,421	40,098	116,5	1,2	6,6
BDE 183	30,644	27,130	88,5	1,0	6,3

### 3.9 Analýza vzorků

Analýza standardů a vzorků probíhala na plynovém chromatografu s detektorem elektronového záhytu. Vzorek byl umístěn do autosampleru plynového chromatografu a následně automaticky nadávkován. Analýza probíhala současně na dvou kolonách (HT – 8, BD 17 – MS). K identifikaci analytů byl použit program HPCORE Chemstation, pomocí

kterého byly porovnány retenční charakteristiky sledovaných kongenerů s retenčními charakteristikami standardů. Kvantifikace analytů byla provedena srovnáním plochy píku daného kongeneru s plochou odpovídajících standardů.

- Podmínky plynové chromatografie:

Teplotní program termostatu: počáteční teplota 100 °C

30 °C/min do 200 °C, drženo 3 minuty

3 °C/min do 230 °C, drženo 10 minut

5 °C/min do 270 °C, drženo 5 minut

10 °C/min do 310 °C, drženo 15 minut

Doba analýzy: 80,33 minut

Teplota detektoru: 300 °C

Objem nástřiku: 1 µl

Nosný plyn: vodík, konstantní průtok 1,1 ml/min

Make – up plyn: dusík 10 ml/min

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Kalibrační charakteristiky jednotlivých sledovaných kongenerů

Pro všechny sledované kongenery BDE byly pomocí jejich standardů vytvořeny vícebodové kalibrační křivky. Tyto křivky byly použity pro kvantifikaci detekovaných kongenerů. Sledovaných kongenerů bylo celkem 9: BDE – 28, 47, 66, 85, 99, 100, 153, 154 a 183. Pro sestavení kalibračních křivek byla použita šestibodová kalibrace, a to pro koncentrace 1, 5, 10, 25, 50, 100 ng/ml. Kalibrační křivky se nacházejí v příloze této práce.

Tabulka 11: Kalibrační charakteristiky sledovaných kongenerů

kongener	regresní rovnice kalibrační křivky	korelační koeficient $R^2$
28	$y = 2081,6x - 803,85$	0,9996
47	$y = 1848,9x - 3947,2$	0,9990
66	$y = 1750,5x - 4892,4$	0,9981
100	$y = 778,03x - 3099,7$	0,9959
99	$y = 1643,1x - 5449,2$	0,9966
85	$y = 1734x - 4681,7$	0,9980
154	$y = 954,32x - 4151,9$	0,9929
153	$y = 1288,9x - 4751,4$	0,9954
183	$y = 233,4x - 826,76$	0,9955

### 4.2 Mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ)

Hodnoty meze detekce a stanovitelnosti byly vypočteny z hodnot výšek píků u kongenerů s nejnižší koncentrací (1ng/ml) a z hodnot šumu základní linie detektoru u reálných vzorků.

#### 4.2.1 Výpočet LOD a LOQ

$$\text{LOD} = \frac{3 \cdot H}{h} \cdot C$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \cdot H}{h} \cdot C$$

Tabulka 12: Hodnoty LOD a LOQ pro jednotlivé stanovované kongenery

kongener	LOD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ sušiny)	LOQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ sušiny)
28	0,304	1,014
47	0,306	1,018
66	0,302	1,007
100	0,476	1,587
99	0,593	1,978
85	0,604	2,014
154	0,561	1,869
153	0,531	1,770
183	0,333	1,111

### 4.3 Analýza reálných vzorků

Bylo analyzováno 15 připravených vzorků, z nichž 8 vzorků byly prosté půdy odebrané u polí nebo v okolí řek a 7 vzorků půd, které byly odebrány z míst zasažených požárem. V půdách, které požáry zasaženy nebyly, lze očekávat pouze malé koncentrace sledovaných analytů, a to v rámci jednotek mikrogramů. U půd zasažených požárem by měly být koncentrace BDE podstatně vyšší, v rámci desítek mikrogramů. Veškeré naměřené výsledky zobrazují následující grafy a tabulky. Hodnoty zátěže BDE jsou vždy vyjádřeny v  $\mu\text{g}$  BDE/kg sušiny dané půdy. Hodnoty n. d. v tabulkách znamenají, že koncentrace daného analytu byla pod mezí detekce (<LOD). Hodnoty <LOQ udávají, že daný kongener byl sice detekován, ale jeho koncentrace byla nižší, než LOQ a proto nemohl být stanoven.

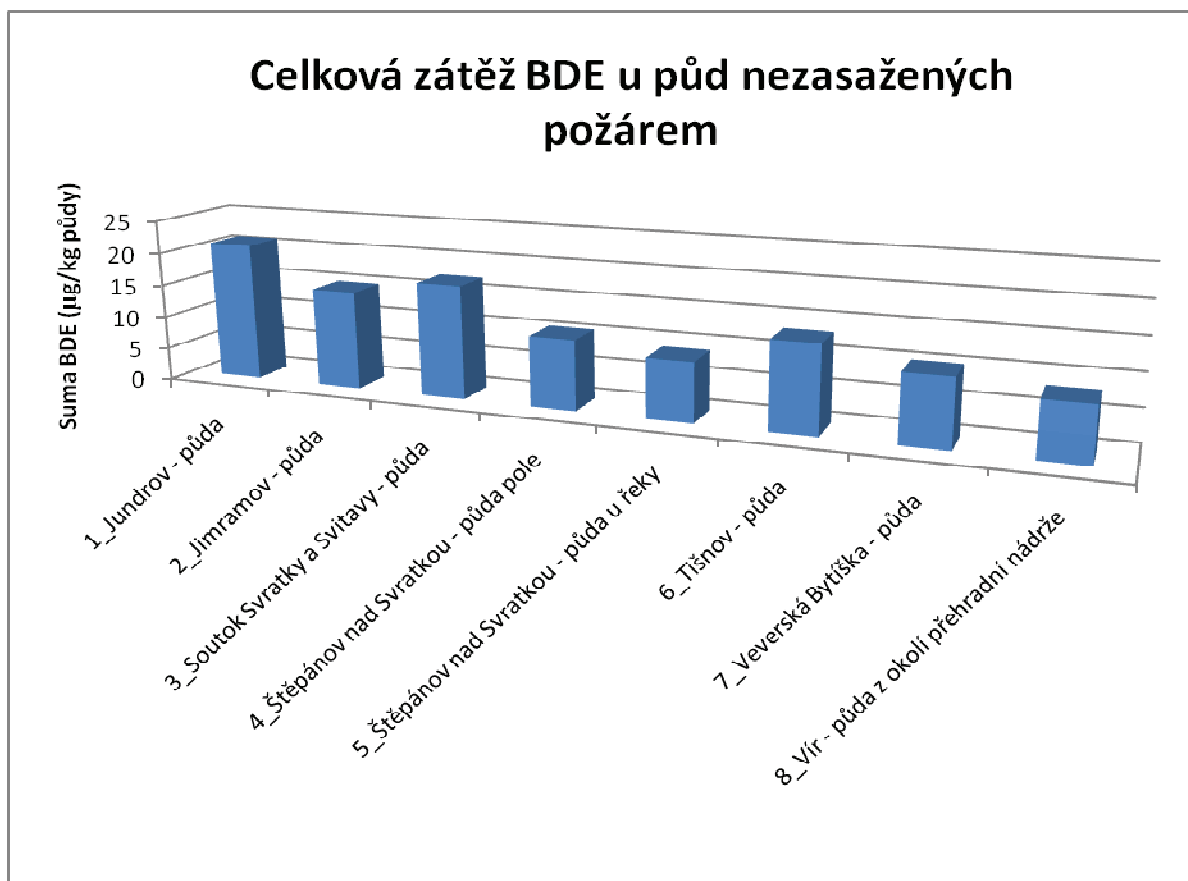
### 4.3.1 Vzorky prostých půd nezasažených požárem

Tabulka 13: Zatížení půd nezasažených požárem

vzorek	Kongener BDE									
	28	47	66	100	99	85	154	153	185	suma
1	4,1	4,3	2,7	n.d.	n.d.	2,8	1,9	3,1	2,2	21,1
2	3,7	1,7	1,4	<LOQ	<LOQ	2,2	<LOQ	2,8	3,1	15,0
3	4,4	1,6	1,3	<LOQ	<LOQ	3,0	2,2	2,4	2,4	17,3
4	4,5	1,8	1,4	<LOQ	<LOQ	3,0	<LOQ	<LOQ	n.d.	10,7
5	n.d.	1,8	1,8	<LOQ	n.d.	n.d.	3,6	1,9	n.d.	9,0
6	8,9	<LOQ	1,2	n.d.	<LOQ	3,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	13,3
7	2,7	<LOQ	1,9	3,0	<LOQ	<LOQ	n.d.	<LOQ	2,8	10,3
8	n.d.	<LOQ	n.d.	2,3	n.d.	n.d.	n.d.	2,8	3,2	8,4

Poznámka: všechny hodnoty jsou uvedeny v  $\mu\text{g BDE/kg}$  půdy

Z výsledků měření reálných vzorků půd nezasažených požárem vyplývá, že úroveň znečištění polybromovanými difenylethery není příliš vysoké. Celkové zatížení se pohybuje v rozmezí od 8 do 22  $\mu\text{g BDE/kg}$  půdy. Nejzatíženějším z těchto vzorků byl vzorek, který byl odebrán v městské části Brno – Jundrov, v okolí lesa na konci ulice Březová. Celkové zatížení půdy z této lokality bylo 21,1  $\mu\text{g BDE/kg}$  půdy a nejvíce zastoupen byl kongener BDE – 47 s koncentrací 4,3  $\mu\text{g BDE/kg}$  půdy. Naopak nejméně zatíženy byly vzorky číslo 5 a 8, tj. vzorky ze Štěpánova nad Svratkou a z Víru. Oba vzorky byly odebrány v blízkosti vody, vzorek ze Štěpánova nad Svratkou v blízkosti řeky Svratky a vzorek z Víru v blízkosti vodní nádrže Vír. V této souvislosti je nutno upozornit na to, že vodní nádrž Vír je používána pro úpravu na pitnou vodu pro město Brno. Zastoupení jednotlivých kongenerů ve vzorcích bylo velmi různorodé. Ani v jednom vzorku nebyl detekován, případně byl pod mezí detekce, BDE – 99. BDE – 100 byl stanoven pouze ve dvou vzorcích z osmi. Naopak v sedmi vzorcích z osmi byl stanoven kongener BDE – 66.



Graf 1: Zatížení půd nezasazených požárem

#### 4.3.2 Vzorky půd zasažených požárem

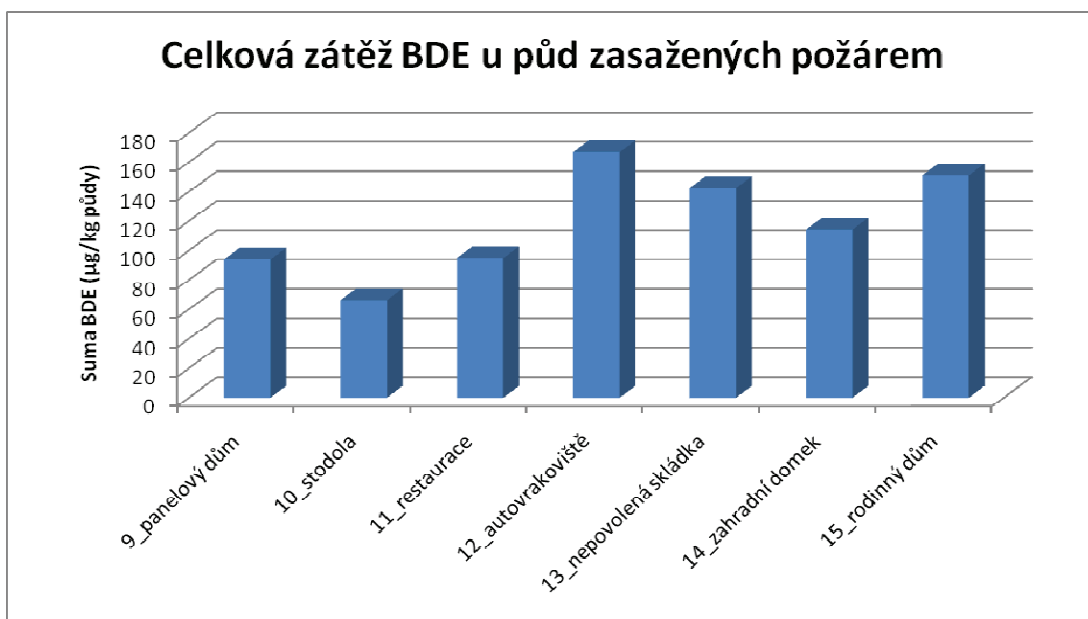
Tabulka 14: Zatížení půd zasažených požárem

kongener BDE										
vzorek	28	47	66	100	99	85	154	153	185	suma
9	5,5	4,2	5,1	4,1	3,0	41,8	9,5	5,9	14,9	94,0
10	<LOQ	<LOQ	1,4	n.d	<LOQ	18,4	n.d	25,5	20,9	66,2
11	9,7	7,4	8,0	5,5	29,1	n.d	7,8	5,3	22,1	94,9
12	38,6	41,4	22,5	11,9	20,5	7,2	10,4	9,5	4,8	166,8
13	14,4	16,0	22,4	16,7	17,3	19,5	14,7	14,5	7,0	142,5
14	6,8	15,4	63,2	n.d	n.d	n.d	28,8	n.d	n.d	114,3
15	29,8	18,5	n.d.	n.d	17,4	n.d	32,9	10,4	42,1	151,1

Poznámka: všechny hodnoty jsou uvedeny v µg BDE/kg půdy

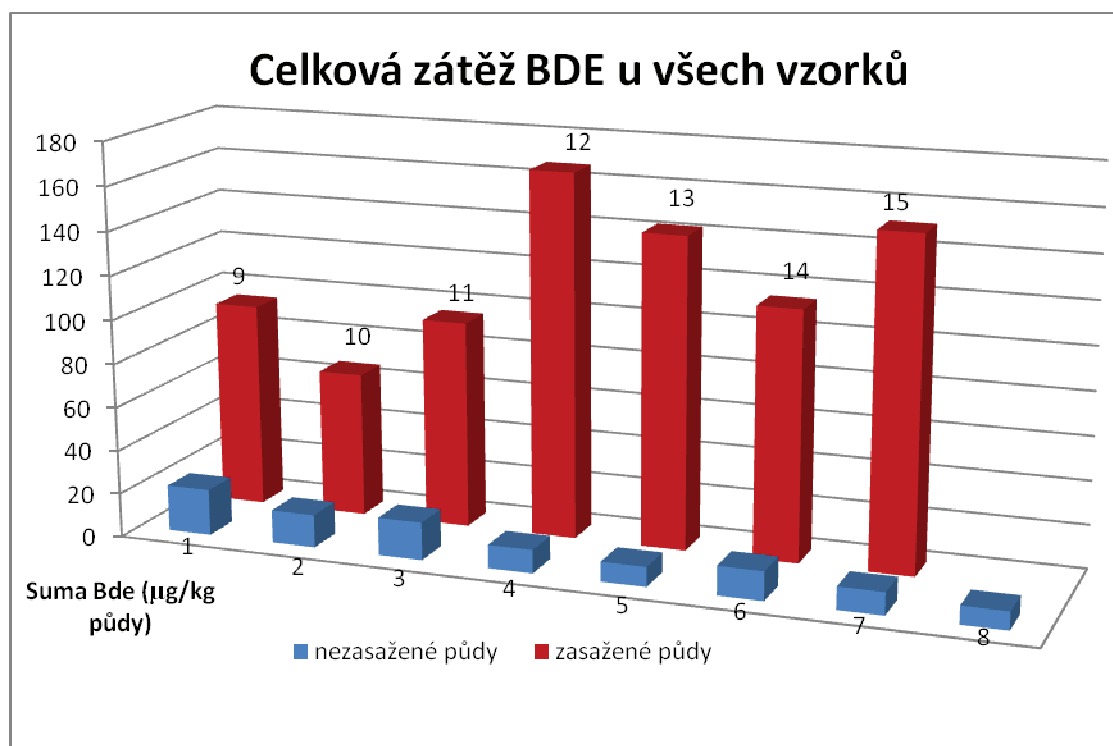
Z výsledků měření reálných vzorků půd zasažených požárem je zřejmé, že celkové zatížení BDE je zde o poznání vyšší, než tomu bylo u půd požáry nezasazených. Hodnoty celkového zatížení se zde pohybují přibližně v rozmezí 94 – 170 µg/kg půdy. U vzorku č. 10,

tj. půda po požáru dřevěné stodoly, je celková zátěž poněkud nižší (66,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  půdy), než je tomu u ostatních vzorků půd. To je pravděpodobně způsobeno skladbou stodoly a věcí v ní umístěných a požárem zasažených. Stodola byla téměř celá ze dřeva a uvnitř se nenacházely žádné elektrické přístroje ani jiné vybavení. Téměř u všech vzorků se podařilo stanovit alespoň osm z devíti sledovaných kongenerů, jejich procentuální zastoupení v jednotlivých vzorcích však bylo dosti odlišné. Tato skutečnost má svoji příčinu v materiálu a vybavení, který byl při požáru zasažen. Každá půda pochází z poněkud odlišného typu požáru (pokaždé hořelo něco trochu jiného), a proto je také procentuální zastoupení kongenerů v jednotlivých vzorcích značně odlišné.

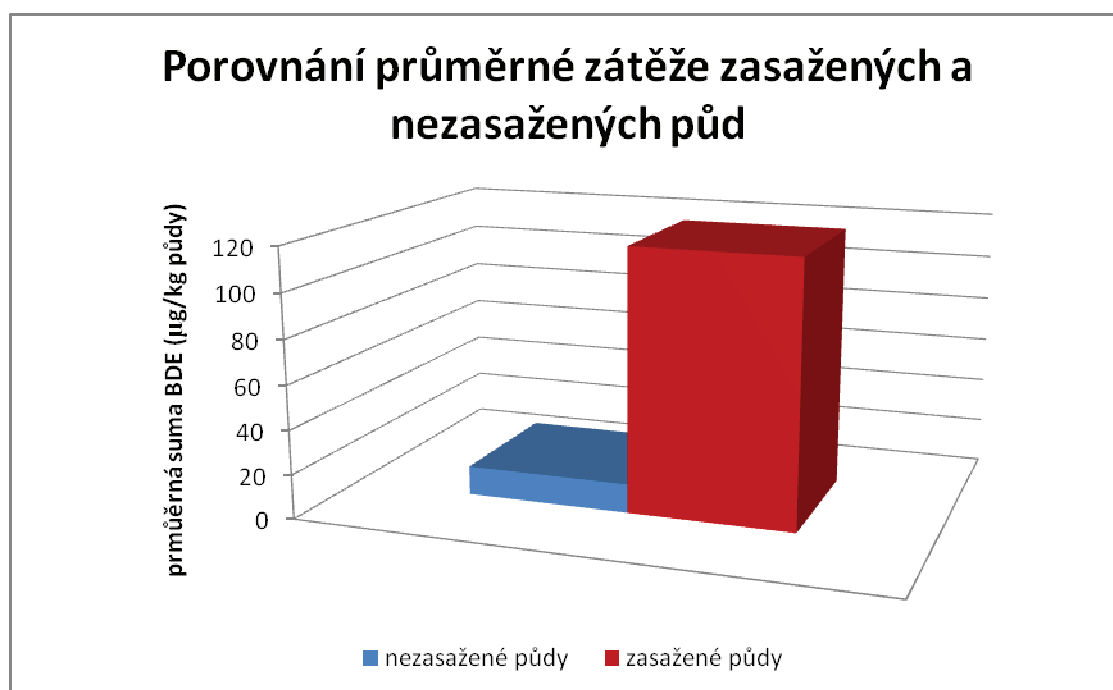


Graf 2: Zatížení půd zasažených požárem

### 4.3.3 Porovnání zasažených a nezasazených půd



Graf 3: Celková zátěž u všech vzorků

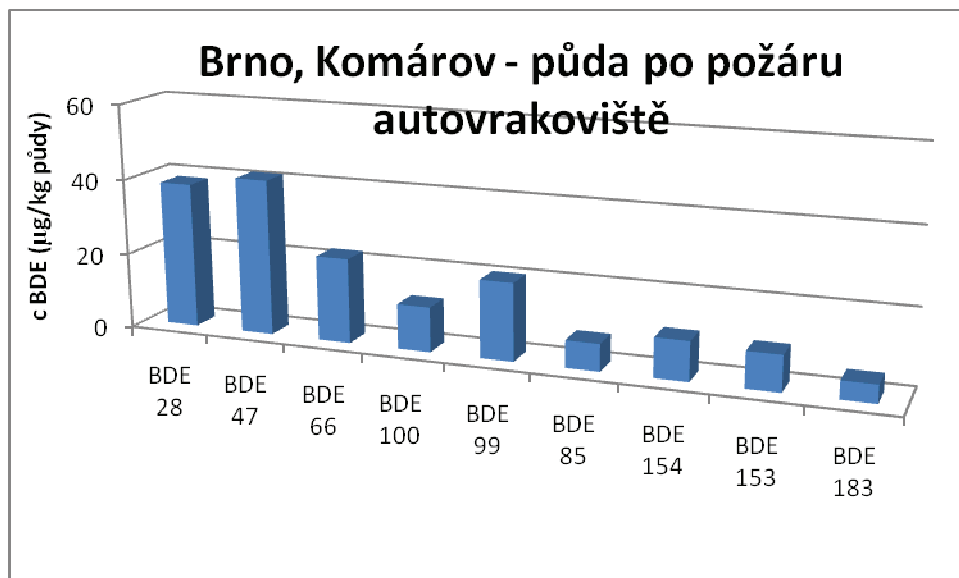


Graf 4: Porovnání průměrné zátěže zasažených a nezasazených půd

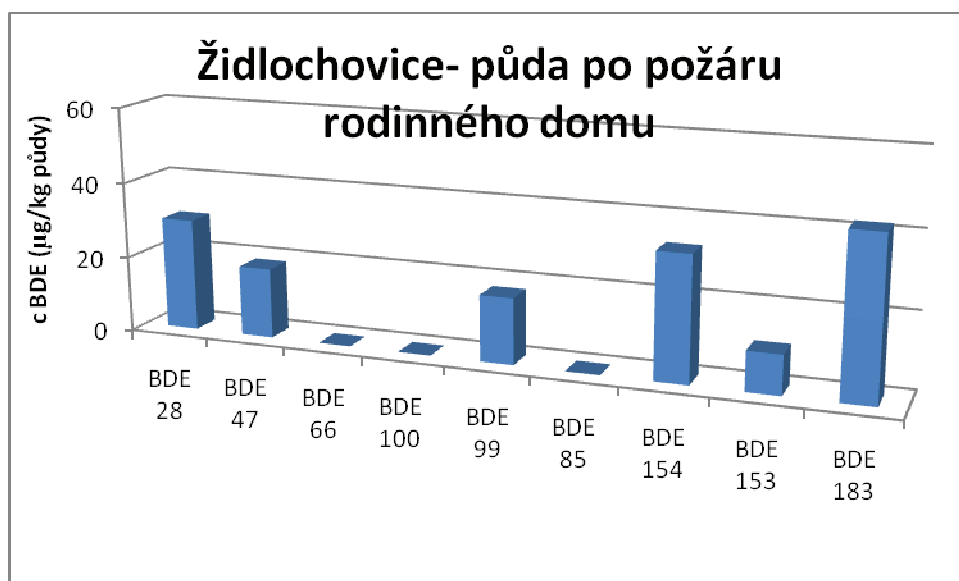
Při pohledu na grafy je zřejmé, že v půdách, které byly zasaženy požárem, je koncentrace BDE několikanásobně vyšší, než v případě půdy požáry nezasazených. Jedná se o jasný

důkaz toho, že BDE přítomné v příslušných zařízeních, se po jejich zasažení požáry uvolňují do složek životního prostředí, v tomto případě do půdy.

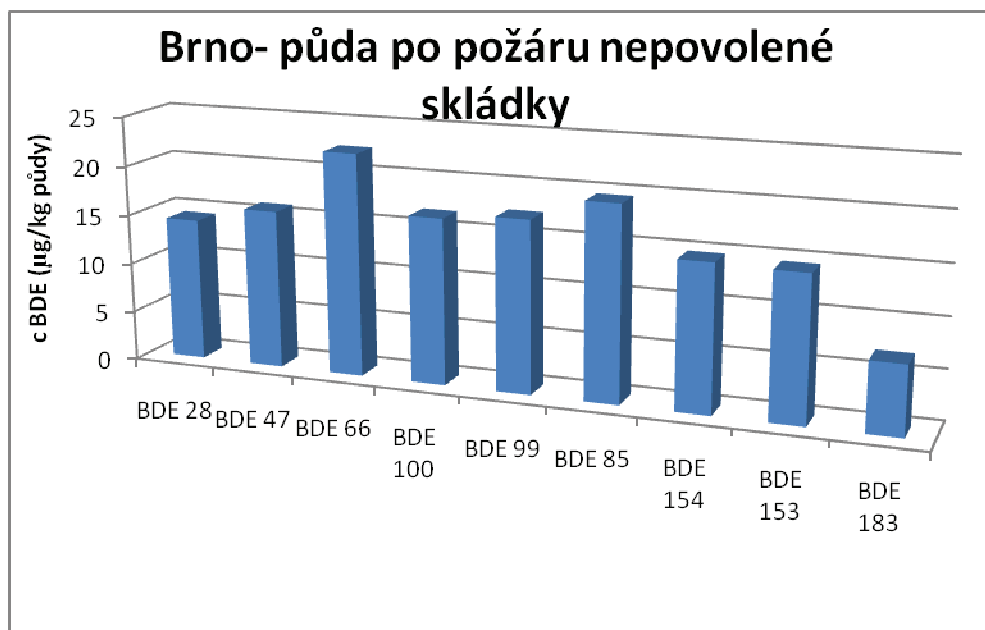
#### 4.3.4 Zastoupení jednotlivých kongenerů v nejvíce zatížených vzorcích



Graf 5: Zastoupení BDE kongenerů v půdě z požáru autovrakoviště v Brně Komárově



Graf 6: Zastoupení BDE kongenerů v půdě z požáru domu v Židlochovicích

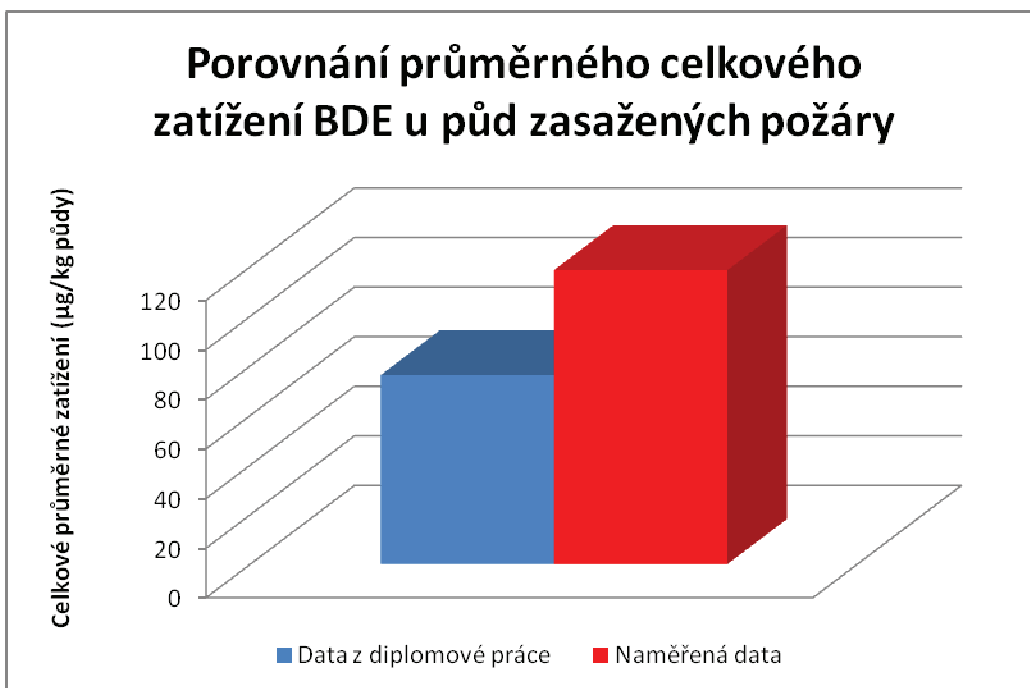


Graf 7: Zastoupení BDE kongenerů v půdě z požáru nepovolené skládky v Brně

Z grafů číslo 5, 6 a 7 je zřejmé, že rozložení jednotlivých kongenerů v půdách po požárech je velice různorodé a nedá se říci, že některý kongener dominuje ve všech půdách a některý nebyl stanoven vůbec. Rozložení kongenerů pravděpodobně závisí na tom, co bylo ohniskem požáru, tzn., co přesně hořelo. Na autovrakovišti se jednalo převážně o potahy a vnitřní polstrování automobilů nebo staré pneumatiky. V rodinném domě se dá očekávat požár elektroniky, nábytku, dřevěných obkladů nebo trámů a na nepovolené skládce může hořet téměř cokoli, tj. od staré elektroniky, pneumatik a nábytku, přes plasty, komunální odpad, až například k vyjetému motorovému oleji. Vzhledem k této velké různorodosti materiálů, které mohly hořet, je celkové rozložení jednotlivých kongenerů velmi rozmanité.

#### 4.4 Porovnání získaných výsledků s údaji z jiných prací

Vzhledem k tomu, že v České Republice zatím nebyla publikována žádná studie, zkoumající zatížení půd, byly porovnány výsledky u půd požárem zasažených alespoň s diplomovou prací, která se rovněž zabývala stanovením BDE v matricích z požářišť [59].



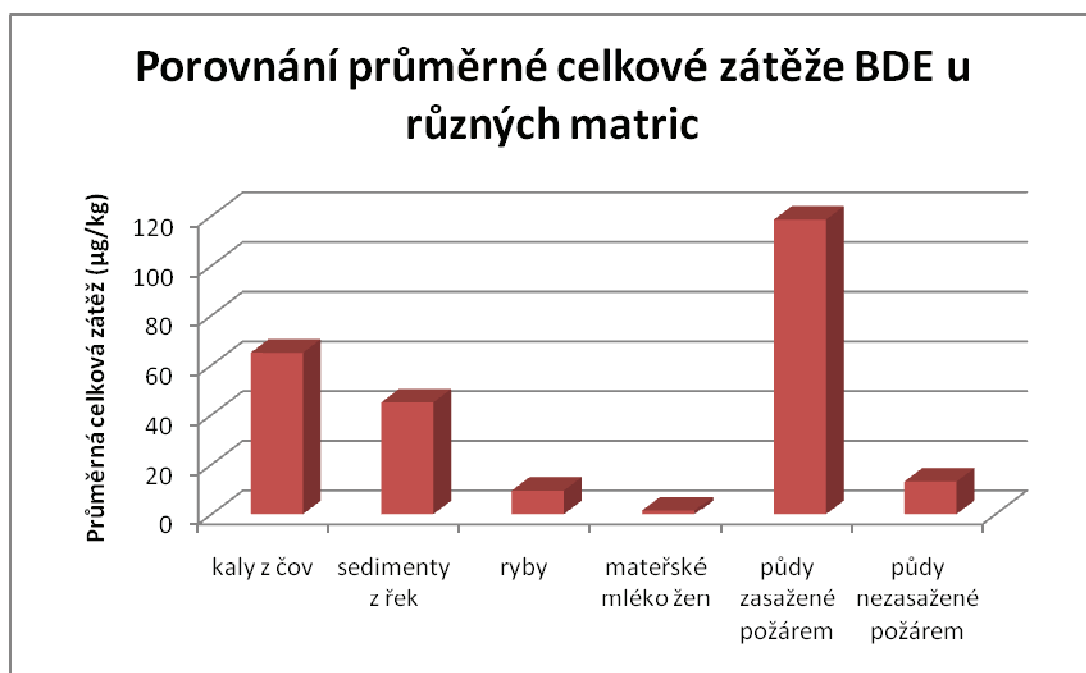
Graf 8: Porovnání naměřených dat a dat dostupných z diplomové práce

Pomocí grafu 8 je porovnáváno průměrné celkové zatížení všech půd zasažených požárem. Průměr celkové zátěže BDE z diplomové práce je 78,6 µg/kg sušiny a průměr celkové zátěže ze vzorků stanovovaných v rámci této práce je 118,5 µg/kg sušiny. Rozdíl mezi průměrnými zátěžemi, zjištěnými v rámci řešení obou prací, je přibližně 40 µg BDE /kg sušiny. Tento rozdíl může být způsoben tím, že v každé práci byly analyzovány vzorky z odlišných lokalit a požárů. Příčinou může být také nižší výtěžnost metody použité v porovnávané diplomové práci. Metoda, kterou jsem používal v této práci má průměrnou výtěžnost 95, respektive 94%, což je téměř o 20 % vyšší. V porovnávané práci je téměř ve všech vzorcích dominantní kongener BDE – 99. V půdách měřených v rámci mé práce se kongener BDE – 99 vyskytuje pouze v pěti vzorcích ze sedmi, pouze ve vzorku 11 je však kongenerem dominantním. Obrázek o kontaminaci složek životního prostředí v České Republice si můžeme udělat i porovnáním výsledků této práce s výsledky vědeckých studií zaměřených na stanovení BDE v mateřském mléce českých žen [26], v sedimentech a také v odpadních kalech z čistíren odpadních vod [60] a v rybím tuku [61], uvedených v tabulce 15.

Tabulka 15: Zatížení různých složek ŽP polybromovanými difenylethery

Průměrné zatížení různých složek ŽP polybromovanými difenylethery		
kaly z ČOV	65	µg/kg sušiny
sedimenty z řek	45	µg/kg sušiny
ryby	9,5	µg/kg tuku
mateřské mléko žen	1,5	µg/kg tuku

V tabulce 15 jsou prezentovány průměrné hodnoty celkového zatížení BDE různých složek životního prostředí. Nejvíce zatíženy byly kaly z čistíren odpadních vod, následované říčními sedimenty. U ryb je již průměrná koncentrace poměrně nižší a nejnižší je v mateřském mléce.



Graf 9: Porovnání zátěže BDE u různých matric

V grafu 9 je porovnávána průměrná celková zátěž různých matric hodnocených v oblasti České republiky. Z grafu je dobře patrné, že nejvyšší zatížení je u půd, které byly zasaženy požárem. Vzhledem k tomu, že při požárech dochází k únikům BDE do složek životního prostředí, tento výsledek přesně odpovídá teoretickým znalostem o BDE. Průměrně zatížení těchto půd je téměř dvojnásobné, v porovnání se zatížením kalů z čistíren odpadních vod a téměř devítinásobné v porovnání s půdami, které požárem zasaženy nebyly.

## 5 ZÁVĚR

Předložená diplomová práce je zaměřena na zhodnocení zátěže půd polybromovanými difenylethery. Práce pojednává jak o porovnání zátěže PBDE v půdách zasažených a nezasazených požáry, tak také o rozložení jednotlivých kongenerů. Sledované kongenery byly BDE – 28, 47, 66, 100, 99, 85, 154, 153 a 183.

V úvodní teoretické části práce jsou zpracovány literární rešerše na téma polybromované difenylethery. V této části jsou zhodnoceny jejich fyzikálně – chemické vlastnosti, způsoby výroby, oblasti a princip použití, toxikologické vlastnosti a způsob distribuce ve složkách životního prostředí.

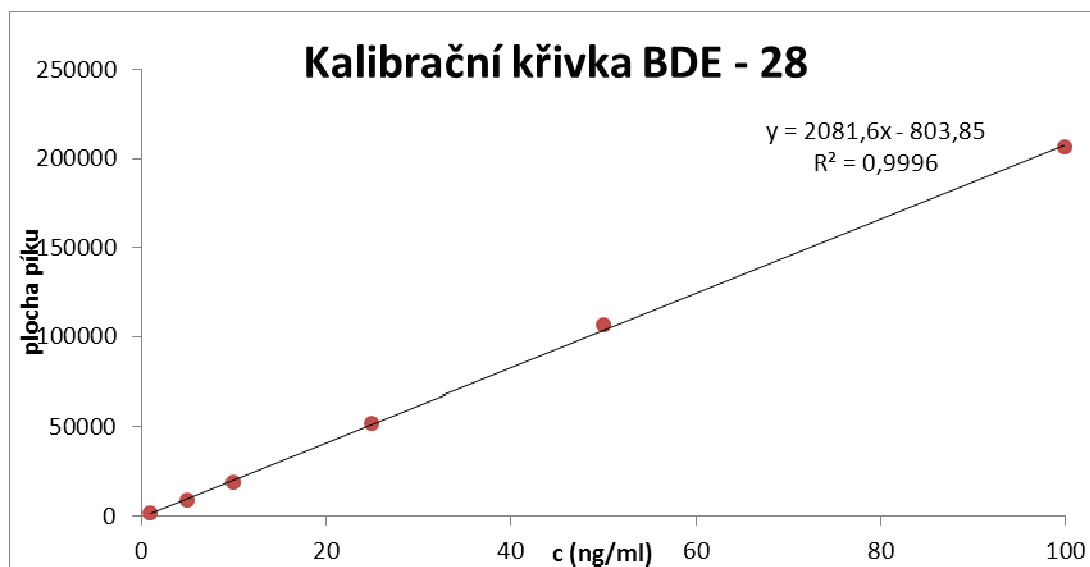
Praktická část je zaměřena především na hledání optimální metody pro stanovení, na výsledky měření reálných vzorků a na interpretaci výsledků. Prvním krokem bylo hledání nejvhodnější metody pro stanovení. Byly porovnávány tři extrakční metody běžně používané při analýzách životního prostředí, tj. PSE, MAE a ultrazvuková extrakce, která byla nakonec vyhodnocena jako nejúčinnější, a proto byla použita pro stanovení reálných vzorků. Rovněž byly porovnávány různé směsi rozpouštědel s různou eluční silou, z nichž se jako nejlepší nakonec osvědčilo rozpouštědlo n – hexan: dichlormethan (v poměru 3:1). Toto rozpouštědlo se natolik osvědčilo, že bylo použito jak k extrakci, tak také pro eluci. Pro přečištění vzorků byla sice ověřována metoda SPE, nicméně klasická kolonová chromatografie se nakonec ukázala být vhodnější, pokud byly jako sorbenty použity vyžíhaný florisil a aktivovaný silikagel. Metoda přečištění kyselou hydrolyzou, aplikovaná pro přečištění půd zasažených požárem, se ukázala být jako nevhodná. Nejen proto, že nedošlo k odstranění všech balastních látek, ale navíc došlo i k podstatnému snížení výtěžnosti celé metody.

Celkem bylo analyzováno 15 vzorků půd, z nichž 8 pocházelo z půd nezasazených požárem a 7 vzorků bylo odebráno z půd požárem zasažených. V půdách nezasazených požáry se celkové zatížení BDE pohybovalo v rozmezí přibližně 8 – 22  $\mu\text{g}/\text{kg}$  sušiny, rozložení jednotlivých kongenerů bylo náhodné a v žádném z těchto vzorků nebylo stanoveno všech 9 sledovaných kongenerů. U půd zasažených požáry se celkové zatížení BDE pohybovalo v rozmezí 90 – 160  $\mu\text{g}/\text{kg}$  sušiny. U vzorku z požáru stodoly, bylo celkové zatížení 66  $\mu\text{g}/\text{kg}$  sušiny, což bylo pravděpodobně způsobeno tím, že hořela pouze stará stodola bez jakéhokoliv vnitřního vybavení. Zastoupení jednotlivých kongenerů bylo velmi různorodé, což se dá spojovat s typy požárů, respektive s věcmi a vybavením, které byly při požáru zasaženy.

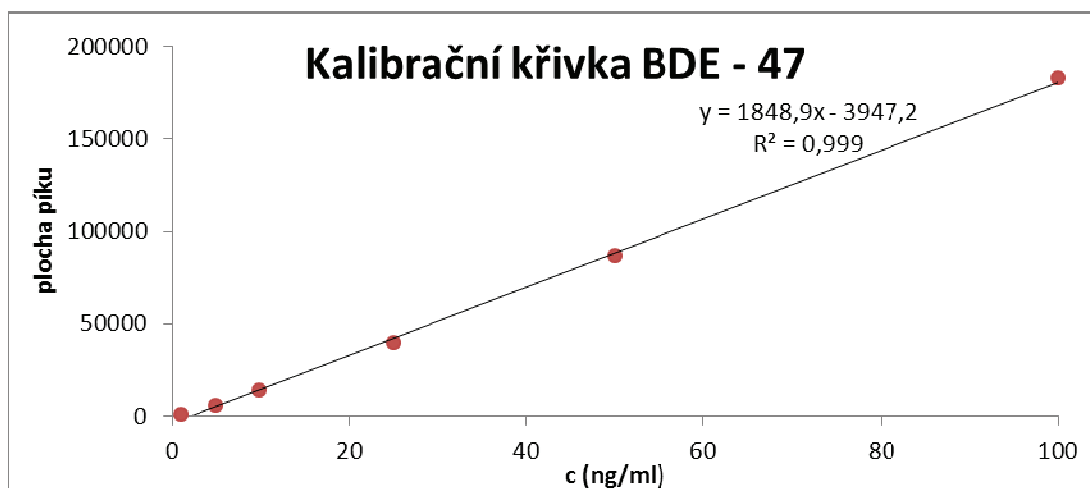
Nejvíce kontaminovaným vzorkem byl vzorek číslo 12 – půda po požáru autovrakoviště v Brně – Komárově, kde celkové zatížení činilo 166,8  $\mu\text{g}$  BDE/kg půdy. V objektu dochází

k likvidaci starých autovraků, a proto mohlo při požáru dojít k zasažení jejich vnitřního vybavení, sedadel, potahů a plastů, což jsou věci, do kterých jsou bromované retardátory hoření ve velkém množství přidávány.

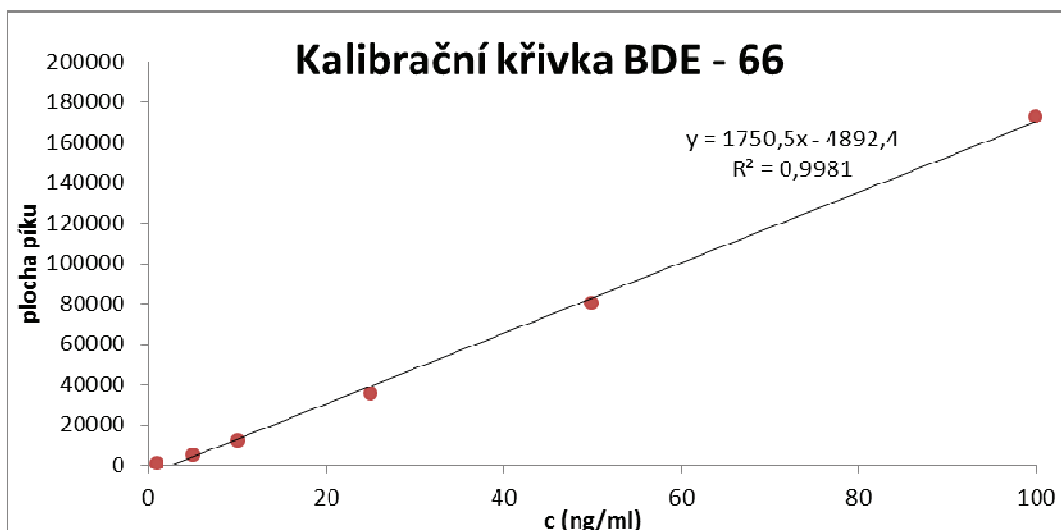
## 6 PŘÍLOHY



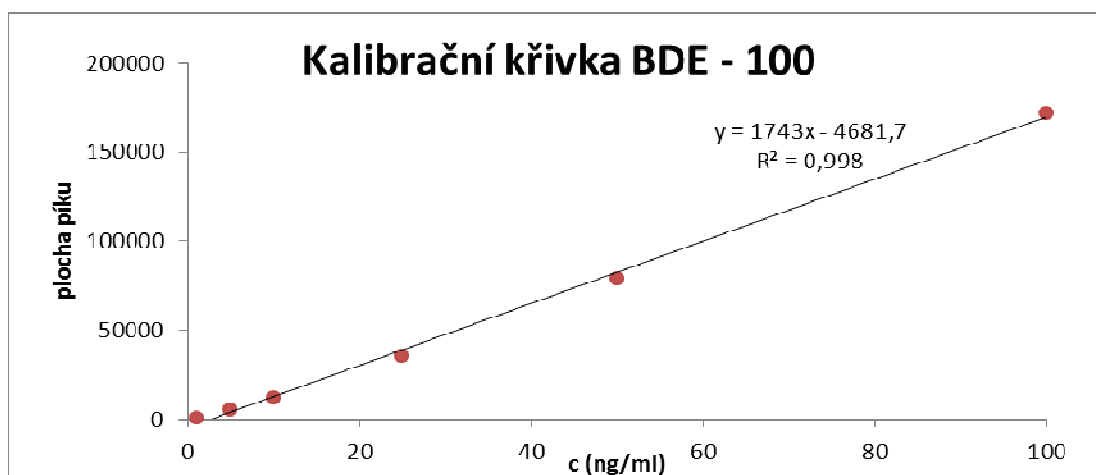
Příloha 1: Kalibrační křivka BDE – 28



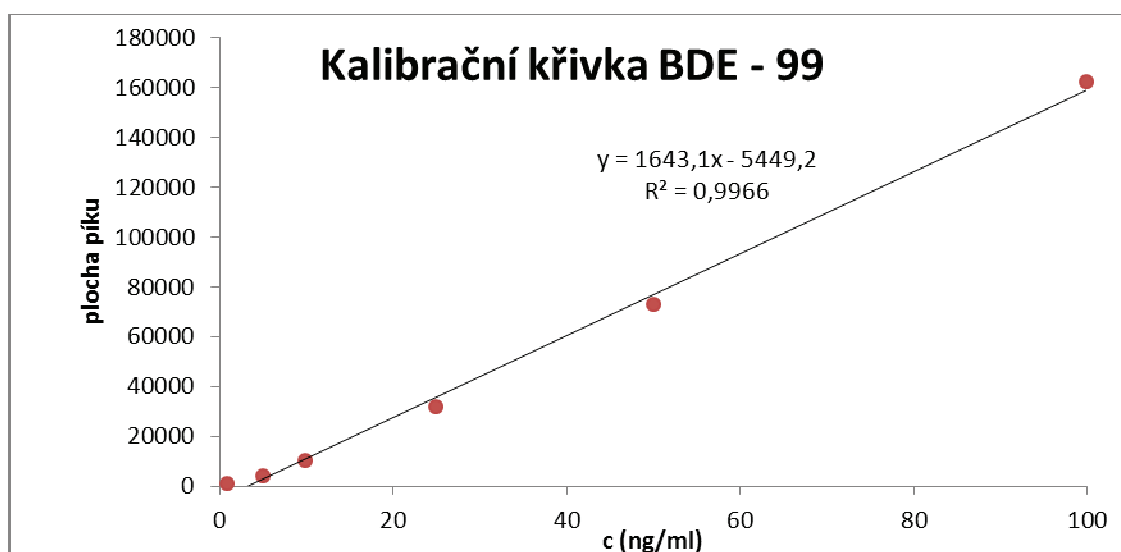
Příloha 2: Kalibrační křivka BDE – 47



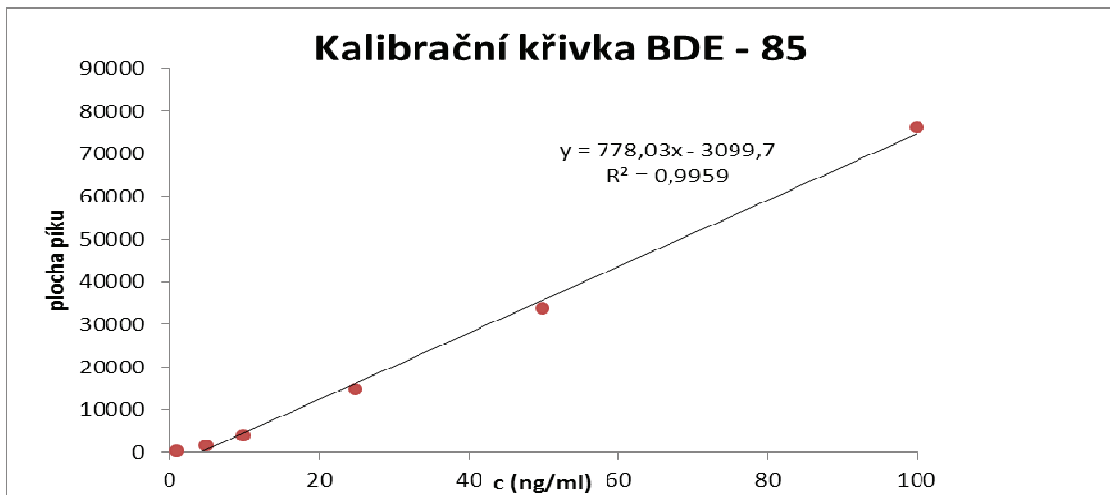
Příloha 3: Kalibrační křivka BDE – 66



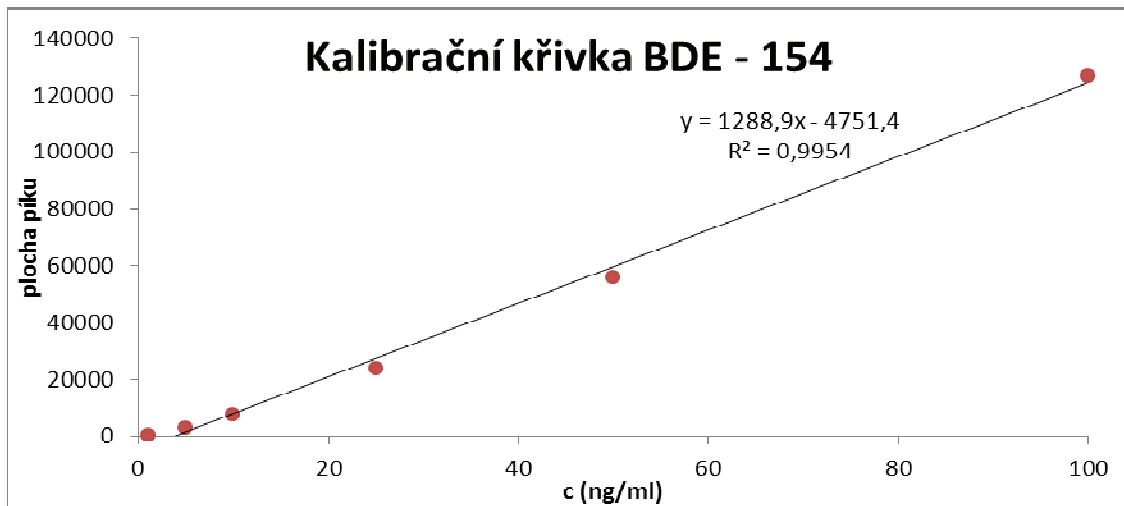
Příloha 4: Kalibrační křivka BDE – 100



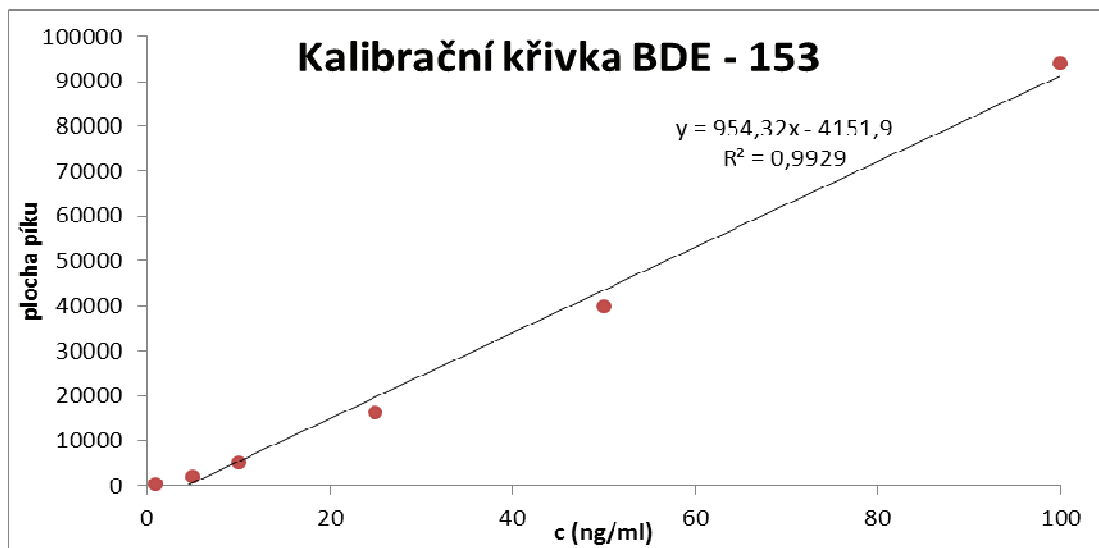
Příloha 5: Kalibrační křivka BDE – 99



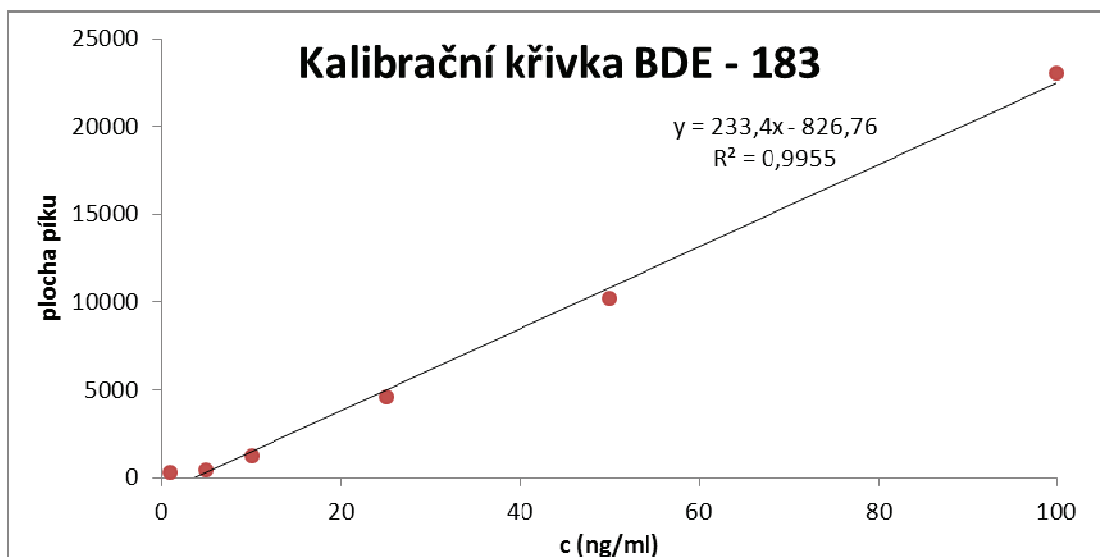
Příloha 6: Kalibrační křivka BDE –85



Příloha 7: Kalibrační křivka BDE – 154



Příloha 8: Kalibrační křivka BDE – 153



Příloha 9: Kalibrační křivka BDE – 183



Příloha 10: Přečištění vzorků kolonovou chromatografií



*Příloha 11: Autovrakoviště Brno – Komárov*



*Příloha 12: Autovrakoviště Brno – Komárov*

## 7 SEZNAM CITOVANÝCH ZDROJŮ

1. WHO/ICPS: Flame retardants – general introduction. *Environmental health kriteria*. 1997, vol. 192, s. 1-92.
2. De WITT, C. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere*. 2002, vol. 46, s. 583-624.
3. SELLSTRÖM, U, JANSSON, B, KIERKEGAARD, A, de WITT, C, ODSJÖ, T, OLSSON, M. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDE) in Biological Samples from the Swedish Environment. *Chemosphere*. 1993, vol. 26, s. 1703-1718.
4. PETTERSSON, A, KARLSSON, A. Analysis and toxicology of brominated flame retardants with emphasis on PBDEs, *Man-Technology Environment Research Centre, Department of Natural science, Orebro University*. 2001, s. 1-55.
5. de BOER, J, de BOER, K, BOOM, J, P. Polybrominated biphenyls and diphenyl ethers. *The handbook of environmental chemistry 3, New types of persistent halogenated compounds*, 2000, s. 61-95.
6. WHO/ICPS: *Brominated diphenyl ethers*. *Environmental health kriteria*. 1994, vol. 162, s. 1-92.
7. HAGLUND, P. L, ZOOK, D. R, BUSER, H. – R, HU, J. Identification and Quantification of Polybrominated Diphenyl Ethers in Baltic Biota. *Environmental Science and Technology*. 1997, vol. 31, s. 3281 – 3287.
8. RAHMAN, F, LANGFORD, K, SCRIMSHAW, M, LESTER, J. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) flame retardants. *The science of total environment*. 2001, vol. 275, s. 1-17.
9. MARSH, G, HU, J, JAKOBSSON, E, RAHM, S, BERGMAN, A. Synthesis and Characterisation of 32 Polybromated Diphenyl Ether. *Environmental Science and Technology*. 1999, vol. 33, s. 3033 – 3037.
10. POUSTKA, Jiří. *Bromované retardátory hoření – environmentální xenoestrogeny* [online]. 2004, 31. 1. 2005 [cit. 2009-02-24]. Dostupný z WWW: <<http://www.phytosanitary.org/project.php?idp=42>>.
11. TECLECHIEL, D, SUNDSTRÖM, M, MARSH, G. Synthesis of polybrominated diphenyl ethers via symmetrical tetra- and hexabrominated diphenyliodonium salts. *Chemosphere*. 2008. 74. Dostupný z <[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)>
12. NORRIS, J. M, KOCIBA, R. J, SCHWETZ, B. A, ROSE, J. Q, HUMINSTON, C. G, JEWETT, G. L, GEHRING, P, J, MAILHES, J. B. Toxicology of Octabromobiphenyl and Decabromodiphenyl Oxide. *Environmental health Perspectives*. 1975, vol. 11, s. 153 – 161.

13. KLASSON-WEHLER, E, MORCK, A, HAKK, H. Metabolism of Polybrominated Ethers in the Rat. *The second International Workshop on Brominated Flame retardants*. 2001, Stockholm, Sweden.
14. MEIRONYTÉ, D, NORÉN, K. Analysis of Polybrominated Diphenyl Ethers in Swedish Human Milk. A Time – Related Trend Study, 1972 – 1997. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1999, vol. 58, s. 329 – 341.
15. SJÖDIN, A, HAGMAT, L, KLASSON – WEHLER, E, KRONHOLM – DIAB, K, JAKOBSSON, E, BERGMAN, A. Flame retardants exposure: Polybrominated Diphenyl Ethers in Blood from Swedish Workers. *Environmental Health Perspectives*. 1999, vol. 107, s. 643 – 648.
16. CARTÉ, B, FAULKNER, J. Polybrominated diphenyl ethers from *Dysedia chlorea* and *phyllospongia foliascens*. *Tetrahedron*. 1981, vol. 37, s. 2335 – 2339.
17. JANSSEN M. D. PhD, M. P. H, Sarah. Brominated Flame Retardants : Rising Levels of Concern. *Health care without harm* [online]. 2005 [cit. 2009-02-12].
18. TALSNESS, Ch. E. Overview of toxicological aspects of polybrominated diphenyl ethers: A flame – retardant additive in several consumer products. *Environmental Research*. 2008, vol. 108, s. 158 – 167.
19. DODDER, N. G, STRANDBERG, B, HITES, R. A. Concentrations and Spatial Variations of Polybrominated Diphenyl Ethers in Fish and Air from the Northeastern United States. *Organohalogen Compounds*. 2000, vol. 47, s. 69 – 72.
20. BERGMAN, A, ANTHANASIADOU, A, WEHLER, E. K, SJÖDIN, A. Polybrominated Environmental Pollutants: Human and Wildlife Exposures. *Organohalogen Compounds*. 1999, vol. 43, s. 89 – 92.
21. BSEF. Major Brominated Flame Retardants Volume Estimates: Total Market Demand By Region in 2001 [online]. Dostupné z: [http://www.bsef.com/docs/BFR\\_vols\\_2001.doc](http://www.bsef.com/docs/BFR_vols_2001.doc), [cit. 2008-04-08].
22. European Council. Directive 76/769/EEC [online]. Dostupné z [http://ec.europa.eu/enterprise/chemicals/legislation/markrestr/197610769\\_en\\_03\\_10\\_2007.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/chemicals/legislation/markrestr/197610769_en_03_10_2007.pdf), [cit. 2008-09-11].
23. PULKRABOVÁ, J, HAJŠLOVÁ, J. Vliv znečištění sedimentů a odpadních kalů z čistíren odpadních vod na ekotoxicitu a biodiverzitu daného ekosystému. Dostupné z :<[www.vscht.cz/zkp/](http://www.vscht.cz/zkp/)>
24. U. S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers. *Public Health Service, Agency for toxic substances and disease registry*. 2004.

25. SJODIN, A, HAGMAN, L, KLASSON-WEHLER, E, KRONHOLM-DIAB, K, JAKOBSSON, E, BERGMAN, A. Flame retardant exposure – polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in blood from Swedish workers. *Environmental Health Perspectives*. 1999, vol. 107, s. 643 – 648.
26. KAZDA, R, HAJŠLOVA, J, POUŠTKA, J, CAJKA, T. Determination of polybrominated diphenyl ethers in human milk samples in the Czech Republic – Comparative study of negative chemical ionisation mass spectrometry and time of flight resolution mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2004, vol. 520, s. 237 – 243.
27. COLES, J., GUILHAUS, M., Orthogonal acceleration-a new direction for time-offlight mass spectrometry: fast, sensitive mass analysis for continuous ion sources *Trends Anal. Chem.* 1993, 12, s. 203-213.
28. STEJSKAL, V; FRAŇKOVÁ, M. Sborník ze semináře: Metody odběru a analýzy vzorků komodit, potravin a půdy [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 2009 [cit. 2011-05-02]. Dostupné z WWW: <<http://www.vurv.cz/files/Publications/ISBN978-80-7427-025-3.pdf>>.
29. MONTORY, M, HABIT, E, FERNANDES, P, Grimalt, O, J, Barra, R. PCBs and PBDEs in wild Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in the Northern Patagonia, Chile. *Chemosphere* [online]. 2010, 78, [cit. 2011-05-02].
30. De WITT, C. Brominated flame retardants, Swedish Environmental Protection Agency. *Report 5065*. 2000, s. 1 – 96.
31. Wikimedia commons [online]. 27. 10. 2006 [cit. 2010-11-22]. Soxhlet extractor. Dostupné z WWW: <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Soxhlet\\_extractor.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Soxhlet_extractor.svg)>.
32. SCHROTER-KERMANI, C, HELM, D, HERRMAN, T, PAPKE, O. The German environmental specimen bank – applications in trend monitoring of polybrominated diphenyl ethers in human blood. *Organohalogen Compounds*. 2000, vol. 47, s. 49-52.
33. ASHLEY, K; N. ANDREWS, R; CAVAZOS, L; DEMANGE, M: Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2001, 16, s 1147 – 1153 [cit. 2010-11-23]. Dostupný z WWW: <[http://www.rsc.org/delivery/\\_ArticleLinking/DisplayArticleForFree.cfm?doi=b102027g](http://www.rsc.org/delivery/_ArticleLinking/DisplayArticleForFree.cfm?doi=b102027g)>
34. HALE, R. C, La GUARDIA, M. J, HARVEY, E. P, MAINOR, M. T, DUFF, W. H, GAYLOR, M. H, JACOBS, E. M, MEARS, G. L. Comparison of brominated diphenyl ether fire retardant and organochlorine burdens in fish from Virginia rivers (USA). *Organohalogen Compounds*. 2000, vol. 47, s. 65 – 68.

35. RIDDELOVÁ, K. *Izolační a separační metody*. VŠCHT Praha, dostupné z [http://web.vscht.cz/poustkaj/ISM\\_LE\\_ASE\\_MASE\\_0907.pdf](http://web.vscht.cz/poustkaj/ISM_LE_ASE_MASE_0907.pdf). [cit. 2009-04-27].
36. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2. dopl a přepr. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s.
37. LUO, Q, WONG, M, CAI, Z. Determination of Polybrominated diphenyl ethers in freshwater fishes from a river polluted by e – waste. *ScienceDirect*. 2007, vol. 72, s. 1644 – 1649.
38. JANKŮ, J, ČERMÁK, J, J. *Vzorkování odpadů*. Učební texty – první vydání. Vysoká škola Chemicko – technologická v Praze, fakulta Technologie ochrany prostředí, Praha 2006.
39. ČÁSLAVSKÝ, J. *Přednášky z předmětu Analytické metody technické praxe*. Vysoké učení technické v Brně, fakulta Chemická, ústav Chemie a technologie ochrany životního prostředí, Brno 2007. Dostupné z E – Learningu VUT.
40. RYAN, J, J, PATRY, B. Determination of brominated diphenyl ethers (BDEs) and levels in Canadian human milk's. *Organohalogen compounds*. 2000, vol. 47, s. 57-60.
41. STRANDMAN, T, KOISTINEN, J, VARTIANIEN, T. Polybrominated diphenyl ethers (PBDes) in placenta nad human milk. *Organohalogen compounds*. 2000, vol. 47, s. 61-64.
42. OHTA, S, ISHIZAKA, D, NISHIMURA, H, NAKAO, T. Comparison of polybrominated diphenyl ethers in fish vegetables, and meats and levels in human milk of nursing woman in japan. *Chemosphere*. 2002, vol. 46, s. 689 – 696.
43. úprava vzorků pro analýzu. E-learning VUT v Brně [online]. 2010, [cit. 2010-02-23]. Dostupný z WWW: <[www.vutbr.cz](http://www.vutbr.cz)>.
44. VERKON [online]. 2009 [cit. 2010-11-23]. Čističky ultrazvukové Sonorex. Dostupné z WWW: <<http://www.verkon.cz/cisticky-ultrazvukove-sonorex/>>.
45. EVISA's instruments database [online]. 2010 [cit. 2010-11-23]. One-PSE (Applied Separations). Dostupné z WWW: <<http://www.speciation.net/Database/Instruments/Applied-Separations/one-PSE-;i592>>.
46. EVISA [online]. 2010 [cit. 2010-11-23]. Multiwave 3000 (Anton Paar GmbH). Dostupné z WWW: <<http://www.speciation.net/Database/Instruments/Anton-Paar-GmbH/Multiwave-3000-%3Bi570>>.
47. *BUCHI Corporation* [online]. 2011 [cit. 2011-04-16]. BUCHI Corporation – Syncore analyst. Dostupné z WWW: <[http://www.mybuch.com/Syncore-Analyst.11335.0.html?&no\\_cache=1&file=357&uid=43275](http://www.mybuch.com/Syncore-Analyst.11335.0.html?&no_cache=1&file=357&uid=43275)>.

48. TATARKOVIČOVÁ, V. Možnosti extrakce a čištění extraktů při analýzách organických polutantů. In CHURÁČEK, Jaroslav. *Analýza organických látek: Sborník přednášek z kurzu*. 1. vydání. Český Těšín : 2-THETA, 1999. s. 52-56. ISBN 80-902432-9-0.
49. Linde-gas.cz [online]. 2010 [cit. 2010-12-04]. Detektor s elektronovým záchytem, Plynová chromatografie s HiQ® speciálními plyny. Dostupné z WWW: <[http://www.linde-gas.cz/international/web/lg/cz/like35lgcz.nsf/repositorybyalias/pdf\\_detektor\\_s\\_elektronovym\\_zachytem/\\$file/Detektor\\_s\\_elektronovym\\_zachytem.pdf](http://www.linde-gas.cz/international/web/lg/cz/like35lgcz.nsf/repositorybyalias/pdf_detektor_s_elektronovym_zachytem/$file/Detektor_s_elektronovym_zachytem.pdf)>.
50. Labicom: Laboratorní přístroje a příslušenství [online]. 2010 [cit. 2010-12-04]. Superkritická fluidní extrakce (SFE). Dostupné z WWW: <<http://www.labicom.cz/sfe-43/>>.
51. ČÁSLAVSKÝ. Úvod do hmotnostní spektrometrie. Helán, Václav. *Analýza organických látek: Sborník přednášek z kurzu*. 2. upravené a doplněné vydání. Český Těšín: 2-THETA, 2005. s. 273 – 282. ISBN 80-902432-9-0.
52. ČÁSLAVSKÝ, J. *Přednášky z předmětu Hmotnostní spektrometrie*. Vysoké učení technické v Brně, fakulta Chemická, ústav Chemie a technologie ochrany životního prostředí, Brno 2009. Dostupné z E – Learningu VUT.
53. Biochemical web [online]. 2004 [cit. 2011-01-11]. Chromatografie. Dostupné z WWW: <http://biochemie.sweb.cz/x/metody/chromatografie.htm#adsorpcni>.
54. DEAN, John R. Dean. *Methods for environmental trace analysis : Analytical Techniques in the Sciences*. West Sussex, England : John Wiley & Sons Ltd., 2003.259 s. ISBN 0-470-84422-1.
55. VONÁSEK, V; LUKEŠ, P. *Statistická ročenka 2010* [online]. Ministerstvo vnitra-generální ředitelství Hasičského záchranného sboru České republiky: MV – generální ředitelství HZS ČR, 2011 [cit. 2011-04-16]. Dostupné z WWW: <<http://www.hzscr.cz/clanek/statisticke-rocenky-hasicskeho-zachranneho-sboru-cr.aspx>>.
56. CHRISTIANSSON, Anna, HOVANDER, Lotta, ATHANASSIADIS, Ioannis, JAKOBSSON, Kristina, BERGMAN, AKE. Polybrominated diphenyl ethers in aircraft cabins – A source of human exposure?. *Chemosphere* [online]. 2008, 73
57. VIGANO, Luigi; ROSCIOLI, Claudio; ERRATIC, Claudio; GUZZELLA, Licia; FARKAS Anna. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Gammarids, Caddisflies, and Bed Sediments of the Lowland River PO. *Bull Environ Contam Toxicol* . 2009, 82, s. 200 – 205
58. ZACHAŘ, P; SÝKORA, D. *Plynová chromatografie* [online]. [cit. 2011-04-23]. Dostupné z WWW: <<http://www.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>>.

59. ČECHOVÁ, E. Stanovení polybromovaných difenyletherů v matricích z požářišť.  
Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 79 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
60. PULKRABOVA, J, HAJŠLOVA, J, POUSTKA, J, KAZDA, R.: Fish as Biomonitors of Polybrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Czech Aquatic Ecosystems: Pollution of the Elbe River Basin, in: *Environmental Health Perspectives*, Vol. 115 | supplement 1 | December 2007
61. HAJŠLOVA, J, PULKRABOVA, J, POUSTKA, J, CAJKA, T, RANDAK, T.: Brominated flame retardants and related chlorinated persistent organic pollutants in fish from river Elbe and its main tributary Vltava, in: *Chemosphere*, 2007, vol. 69, 1195–1203

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

USA – Spojené Státy Americké

FR – retardátory hoření

BFR – bromované retardátory hoření

PBDE – polybromované difenylethery

BDE – bromované bifenyly ethery

HBCD – hexabromcyklododekan

TBBA – tetrabrombisfenol

PCB – polychlorované bifenyly

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry

DDT – dichlordifenyltrichlormethylmethan

tzv. – tak zvaný

PBDF – polybromované dibenzo furany

PBDD – polybromované dibenzo dioxiny

TSH – thyroïdní stimulační hormon

TTR – transthyretin

PBB – polybromované bifenyly

SPMD – semi permeable membrane device

VAPS – versatile air pollution sampler

POG – polymer coated glass

SPE – solid phase extraction

LC/MS – liquid chromatography/mass spectrometry

HPLC – high performance liquid chromatography

PUF – polyuretanová pěna

MAE – mikrovlnná extrakce

SPE – extrakce pevnou fází

PSE – tlaková extrakce rozpouštědlem