



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

## ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

## STUDIUM BIODOSTUPNOSTI A OXIDATIVNÍHO POTENCIÁLU PRVKŮ POMOCÍ SIMULOVANÝCH PLICNÍCH KAPALIN

STUDY OF BIOACCESSIBILITY AND OXIDATIVE POTENTIAL OF ELEMENTS USING SIMULATED LUNG FLUIDS

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jiří Šidla

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Hana Cigánková, Ph.D.

BRNO 2024

# Diplomová práce

magisterský navazující studijní program **Bioinženýrství**

Ústav biomedicínského inženýrství

**Student:** Bc. Jiří Šidla

**ID:** 217665

**Ročník:** 2

**Akademický rok:** 2023/24

**NÁZEV TÉMATU:**

## Studium biodostupnosti a oxidativního potenciálu prvků pomocí simulovaných plicních kapalin

**POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:**

1) Proveďte literární rešerši stanovení biodostupnosti a oxidativního potenciálu prvků v aerosolu. 2) Stanovte oxidativní potenciál jednotlivých prvků ve všech simulovaných plicních kapalinách. 3) Stanovte oxidativní potenciál aerosolu a biodostupnost jednotlivých prvků ze vzorků aerosolu. 4) Výsledky statisticky vyhodnoťte a prezentujte pomocí vhodných metod. 5) Proveďte diskusi získaných výsledků a zhodnoťte využitelnost simulovaných plicních kapalin při laboratorních testech toxicity aerosolu.

**DOPORUČENÁ LITERATURA:**

- [1] CIGÁNKOVÁ, Hana, Pavel MIKUŠKA, Jitka HEGROVÁ, Petra POKORNÁ, Jaroslav SCHWARZ a Jozef KRAJČOVIČ. Seasonal Variation and Sources of Elements in Urban Submicron and Fine Aerosol in Brno, Czech Republic. Aerosol and Air Quality Research [online]. 2021, 21(5). Dostupné z: doi:10.4209/aaqr.2020.09.0556
- [2] CIGÁNKOVÁ, H., P. MIKUŠKA, J. HEGROVÁ a J. KRAJČOVIČ. Comparison of oxidative potential of PM1 and PM2.5 urban aerosol and bioaccessibility of associated elements in three simulated lung fluids. Science of The Total Environment [online]. 2021, 800. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2021.149502
- [3] MOLINA, Carolina, Richard TORO A., Carlos MANZANO, Silvia CANEPARI, Lorenzo MASSIMI a Manuel. LEIVA-GUZMÁN. Airborne Aerosols and Human Health: Leapfrogging from Mass Concentration to Oxidative Potential. Atmosphere [online]. 2020, 11(9). Dostupné z: doi:10.3390/atmos11090917

**Termín zadání:** 5.2.2024

**Termín odevzdání:** 22.5.2024

**Vedoucí práce:** Ing. Hana Cigánková, Ph.D.

**doc. Ing. Radim Kolář, Ph.D.**

předseda rady studijního programu

**UPOZORNĚNÍ:**

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

## **Abstrakt**

Diplomová práce se zabývá stanovením biodostupné koncentrace a oxidativního potenciálu městské aerosolu pomocí 3 simulovaných plicních tekutin. Ve dvou kampaních (léto, zima) byla navzorkována submikronová frakce (PM<sub>1</sub>; částice městského aerosolu s aerodynamickým průměrem menším než 1 μm). Gravimetricky byla stanovena hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub> a pomocí ICP-MS byly stanoveny celkové koncentrace vybraných kovů. Dále byla provedena extrakce navzorkovaných filtrů do 3 simulovaných plicních tekutin (Gamblův roztok – GS, Simulovaná kapalina plicních sklípků – SAF a Curosurf). Extrakty byly použity pro stanovení biodostupnosti jednotlivých kovů pomocí ICP-MS a stanovení oxidativního potenciálu. Oxidativní potenciál standardních roztoků vybraných kovů a reálných vzorků aerosolu byl také studován pomocí 3 simulovaných plicních tekutin. Nejvyšší celková koncentrace v PM<sub>1</sub> byla naměřena u Fe. Biodostupnost většiny studovaných kovů byla v Curosurf vyšší než v GS a SAF. Přestože v letní kampani byla biodostupnost většiny kovů vyšší než v zimní kampani, u OP byly naměřeny vyšší hodnoty v zimní kampani. OP bylo vyšší u extrahovaného PM v Curosurf než v SAF. Rovněž byla provedena studie vzájemných vztahů mezi naměřenými veličinami pomocí korelací. Tato práce přináší bližší pohled na působení inhalovaných kovů obsažených v městském atmosférickém aerosolu na lidské zdraví. Přínosným je rovněž zařazení Curosurfů mezi analyzované SLF, neboť se jedná o látku, která je využívána v nemocnicích pro léčbu syndromu respirační tísně u dětí.

## **Klíčová slova**

Atmosférický aerosol, PM<sub>1</sub>, kov, simulované plicní kapaliny, Gamblův roztok, Simulovaná kapalina plicních sklípků a Curosurf, hmotnostní koncentrace, biodostupnost, oxidativní potenciál

## **Abstract**

This master thesis deals with the determination of the bioaccessible concentration and oxidative potential of an urban aerosol using 3 simulated lung fluids. Submicron fraction (PM<sub>1</sub>; urban aerosol particles with aerodynamic diameter less than 1 µm) was collected in two campaigns (summer, winter). The mass concentration of PM<sub>1</sub> was determined gravimetrically and total concentrations of selected metals were determined by ICP-MS. Next, extraction of the sampled filters into 3 simulated lung fluids (Gamble's solution – GS, Simulated alveoli fluid – SAF, and Curosurf) was performed. The extracts were used to determine the bioaccessibility of each metal by ICP-MS and to determine the oxidative potential. Oxidative potential of standard solutions of selected metals and real aerosol samples was also studied using 3 simulated lung fluids. The highest total concentration in PM<sub>1</sub> was measured for Fe. The bioaccessibility of most of the studied metals was higher in Curosurf than in GS and SAF. Although the bioaccessibility of most metals was higher in the summer campaign than in the winter campaign, higher values of OP were measured in the winter campaign. OP was higher for extracted PM in Curosurf than in SAF. A study of relationships between measured variables was also conducted using correlations. This work provides a closer look at the effects of inhaled metals contained in urban atmospheric aerosol on human health. The inclusion of Curosurf among the SLFs analysed is also beneficial, as it is a substance used in hospitals for the treatment of respiratory distress syndrome in children.

## **Keywords**

Atmospheric aerosol, PM<sub>1</sub>, metal, simulated lung fluids, Gamble's solution, Simulated alveoli fluid, Curosurf, mass concentration, bioaccessibility, oxidative potential

## **Bibliografická citace**

ŠIDLA, Jiří. Studium biodostupnosti a oxidativního potenciálu prvků pomocí simulovaných plicních kapalin [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-05-22]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/159772>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství. Vedoucí práce Ing. Hana Cigánková, Ph.D.

## Prohlášení autora o původnosti díla

<b>Jméno a příjmení studenta:</b>	<i>Bc. Jiří Šidla</i>
<b>VUT ID studenta:</b>	<i>217665</i>
<b>Typ práce:</b>	<i>Diplomová práce</i>
<b>Akademický rok:</b>	<i>2023/24</i>
<b>Téma závěrečné práce:</b>	Studium biodostupnosti a oxidativního potenciálu prvků pomocí simulovaných plicních kapalin

Prohlašuji, že svou práci jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucí/ho práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne: 22. května 2024

-----  
podpis autora

## **Poděkování**

Děkuji vedoucí diplomové práce Ing. Hana Cigánková, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé diplomové práce. Rovněž děkuji konzultantovi diplomové práce Ing. Lukáš Alexa, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé diplomové práce. Dále děkuji Mgr. Jitka Hegrová, Ph.D., z Centra dopravního výzkumu, za poskytnutí dílčích výsledků z ICP-MS. Také děkuji MUDr. Tomáš Juren z Fakultní nemocnice Brno za poskytnutí simulované plicní kapaliny Curosurf.

V Brně dne: 22. května 2024

-----  
podpis autora

# OBSAH

<b>1. TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>15</b>
1.1 ATMOSFÉRICKÝ AEROSOL .....	15
1.1.1 Velikostní frakce aerosolu.....	15
1.1.2 Hmotnostní koncentrace .....	18
1.1.3 Chemické složení.....	20
1.1.4 Vliv atmosférického aerosolu na zdraví .....	23
1.2 INHALAČNÍ BIODOSTUPNOST .....	26
1.2.1 Metody in vivo.....	27
1.2.2 Metody in vitro.....	28
1.3 OXIDATIVNÍ POTENCIÁL .....	28
1.3.1 Metoda testování pomocí dithiothreitolu (DTT) .....	30
1.3.2 Metoda testování pomocí kyseliny askorbové (AA).....	31
1.3.3 Metoda pomocí glutathionu (GSH).....	32
1.3.4 Metoda pomocí kapaliny dýchacích cest (RTL).....	32
1.3.5 Metoda pomocí dichlorofluorescinu (DCFH).....	32
1.3.6 Metoda elektronové spinové resonance (ESR).....	32
1.3.7 Online metody.....	33
1.4 SIMULOVANÉ PLICNÍ KAPALINY.....	34
1.4.1 Gamblov roztok.....	34
1.4.2 Modifikace Gamblova roztoku .....	35
1.4.3 Simulovaná epiteliální kapalina plic (SELF).....	36
1.4.4 Simulovaná kapalina plicních sklípků (SAF) .....	36
1.4.5 Umělá lysozomální kapalina (ALF) .....	37
1.4.6 Fagolysozomální simulační kapalina (PSF) .....	37
1.4.7 Přidání fyziologické kapaliny.....	37
1.4.8 Curosurf.....	37
<b>2. PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>39</b>
2.1 CÍLE.....	39
2.1.1 Cíle diplomové práce .....	39
2.1.2 Dílčí cíle diplomové práce .....	39
2.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE .....	39
2.3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE .....	39
2.4 METODIKA MĚŘENÍ .....	41
2.4.1 Vzorkování aerosolu .....	41
2.4.2 Stanovení hmotnostní koncentrace $PM_{10}$ navzorkovaného městského aerosolu .....	41
2.4.3 Rozklad vzorků pro stanovení celkové koncentrace prvků .....	41
2.4.4 Stanovení celkové koncentrace prvků v $PM_{10}$ navzorkovaného městského aerosolu .....	42
2.4.5 Příprava SLF .....	43
2.4.6 Extrakce vzorků do SLF pro stanovení biodostupnosti a oxidativního potenciálu .....	44
2.4.7 Stanovení biodostupnosti kovů navzorkovaného městského aerosolu.....	45
2.4.8 Stanovení oxidativního potenciálu (DTT) .....	45
2.5 ANALÝZA NAMĚŘENÝCH VÝSLEDKŮ .....	47
<b>3. VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>49</b>
3.1 TEPLOTA A VLHKOST OVZDUŠÍ .....	49

3.2	HMOTNOSTNÍ KONCENTRACE $PM_{10}$ .....	49
3.3	CELKOVÉ KONCENTRACE JEDNOTLIVÝCH KOVŮ.....	51
3.4	BIODOSTUPNOST KOVŮ .....	54
3.4.1	<i>Celková biodostupnost kovů.....</i>	<i>54</i>
3.4.2	<i>Biodostupná koncentrace jednotlivých kovů.....</i>	<i>56</i>
3.5	OXIDATIVNÍ POTENCIÁL .....	61
3.5.1	<i>OP standardních vzorků.....</i>	<i>61</i>
3.5.1	<i>OP reálných vzorků.....</i>	<i>65</i>
4.	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>71</b>
5.	<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>73</b>

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Idealizované schéma velikostní distribuce částic atmosférického aerosolu [4].....	17
Obrázek 2 Depozice různých velikostních frakcí částic aerosolu při dýchání nosem dospělého člověka, podle částí dýchací soustavy (TOT – total respiratory tract, ET – extrathoracic, TB – tracheobronchial, A - alveolar).....	18

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Chemické složení přirozeného surfaktantu a Curosurfu [162] [163]. .....	38
Tabulka 2 Parametry rozkladného procesu .....	42
Tabulka 3 Chemické složení Gamblova roztoku a SAF .....	44
Tabulka 4 Rozřazení kovů dle celkové koncentrace .....	53
Tabulka 5 Rozřazení kovů dle biodostupnosti v jednotlivých SLF pro letní a zimní kampaň .....	60
Tabulka 6 Rozřazení kovů dle biodostupnosti v jednotlivých SLF pro obě kampaně dohromady .....	60
Tabulka 7 Rozřazení kovů podle spotřeby DTT v 1 $\mu\text{M}$ roztocích v jednotlivých SLF .....	63
Tabulka 8 Rozřazení kovů podle koeficientů proložené křivky závislosti spotřeby DTT na koncentraci v jednotlivých SLF .....	63
Tabulka 9 Porovnání SLF u jednotlivých kovů podle spotřeby DTT v 1 $\mu\text{M}$ roztocích kovů v dané SLF, a podle koeficientů proložené křivky závislosti spotřeby DTT na koncentraci kovů .....	64

## SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Průměrná teplota a vlhkost během vzorkování aerosolu, krabicový graf .....	49
Graf 2 Hmotnostní koncentrace PM <sub>1</sub> , krabicový graf.....	50
Graf 3 Celkové koncentrace kovů, léto, krabicový graf .....	51
Graf 4 Celkové koncentrace kovů, zima, krabicový graf.....	51
Graf 5 Biodostupnost kovů, krabicový graf.....	54
Graf 6 Biodostupná koncentrace jednotlivých kovů, léto, sloupcový graf .....	56
Graf 7 Biodostupná koncentrace jednotlivých kovů, zima, sloupcový graf.....	56
Graf 8 Úbytek DTT v standardních vzorcích o koncentraci 1 μM kovů v SLF, sloupcový graf .....	62
Graf 9 Oxidativní potenciál reálných vzorků, krabicový graf.....	66
Graf 10 Závislost OP <sub>m</sub> a OP <sub>v</sub> v GS ve vztahu k hmotnostní koncentraci PM <sub>1</sub> (červená – léto, modrá – zima, zelená – obě kampaně dohromady).....	69
Graf 11 Závislost OP <sub>m</sub> a OP <sub>v</sub> v SAF ve vztahu k hmotnostní koncentraci PM <sub>1</sub> (červená – léto, modrá – zima, zelená – obě kampaně dohromady).....	69
Graf 12 Závislost OP <sub>m</sub> a OP <sub>v</sub> v Curosurf ve vztahu k hmotnostní koncentraci PM <sub>1</sub> (červená – léto, modrá – zima, zelená – obě kampaně dohromady).....	70

## SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

DTNB	5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina
DTT	Dithiothreitol
DW	deionized water
EDTA	dihydrát disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové
GS	Gamble solution
CHOPN	chronická obstrukční pulmonální nemoc
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry
ICP	inductively coupled plasma
MS	mass spectrometer
OCR	octopole reaction cell
OP	oxidativní potenciál
OP <sub>m</sub>	oxidativní potenciál normalizovaný na hmotnost usazených částic
OP <sub>v</sub>	oxidativní potenciál normalizovaný na objem prosátého vzduchu
PM	particulate matter
Q1	první kvadrupól
Q2	druhý kvadrupól
ROS	reactive oxygen species
SAF	simulated alveoli fluid
SBF	simulated biological fluids
SLF	Simulated lung fluid
UV-VIS	ultraviolet-visible light

# ÚVOD

Znečištění ovzduší je v dnešní době závažným environmentálním problémem, který má dopad na životní prostředí i lidské zdraví [1]. Jedná se o komplexní problematiku, kdy existuje mnoho zdrojů a forem znečišťujících látek, které se často liší v závislosti na lokalitě, ročním období a lidské aktivitě. Specifické jsou městské oblasti, kde se koncentrace znečišťujících látek vlivem husté dopravy, průmyslové činnosti a dalších faktorů obvykle zvyšuje. Znečištěný městský aerosol, definovaný jako směs pevných a kapalných částic rozptýlených ve vzduchu, tak představuje specifické zdravotní riziko pro obyvatele měst.

Inhalované částice aerosolu mohou negativně působit na lidské zdraví. Jemnější částice mohou být škodlivější, neboť procházejí až do plicních alveol. Pro hodnocení negativních účinků tohoto působení se měří celková hmotnostní koncentrace pevných částic, případně hmotnostní koncentrace částic menších než 10, 2,5 respektive 1  $\mu\text{m}$ . Každá chemická látka však ovlivňuje zdraví v jiné míře či jiným způsobem. Proto bývá kromě hmotnostní koncentrace jednotlivých látek analyzováno také chemické složení aerosolu.

Některé částice, které jsou vdechnuty, se neabsorbují do těla, ale jsou zpětně vydechnuty. Skutečné účinky inhalovaných částic na lidské zdraví závisí na jejich inhalační biodostupnosti. Ta udává podíl množství látky, která je obsažena v inhalovaném vzduchu, k množství látky, která je absorbována. Absorbované částice poté mohou způsobovat mimo jiné hromadění forem kyslíku (ROS, *reactive oxygen species*), které jsou ve větším množství škodlivé. Schopnost generovat a akumulovat ROS je nazývána oxidativní potenciál (OP).

Tato diplomová práce se zabývá zkoumáním dopadů kovů obsažených v atmosférickém aerosolu na lidské zdraví. Konkrétně je zkoumána hmotnostní koncentrace  $\text{PM}_{10}$ , inhalační biodostupnost a oxidativní potenciál kovů v simulovaných plicních kapalinách.

Úvodní kapitola teoretické části se zabývá charakteristikou atmosférického aerosolu a jeho vlivem na zdraví. V následujících kapitolách je popsána inhalační biodostupnost a oxidativní potenciál a závěrečná kapitola teoretické části je věnována simulovaným plicním kapalinám (SLF, *simulated lung fluid*). V experimentální části jsou nejprve podrobně sepsány cíle práce. Následuje výčet použitých přístrojů a chemikálií. Poté je sepsána metodika měření, a to od vzorkování aerosolu, přes rozklad vzorků, stanovení hmotnostní koncentrace i celkové koncentrace jednotlivých vybraných kovů, přípravu SLF, extrakci vzorků do SLF až po stanovení biodostupnosti a oxidativního potenciálu. Poté je definováno zpracování dat a analýza naměřených výsledků. Nakonec jsou výsledky prezentovány a je provedena jejich diskuse. V závěrečné kapitole je veškerá práce shrnuta včetně výsledků.

# 1. TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Atmosférický aerosol

Aerosol (PM, *particulate matter*) je definován jako heterogenní směs částic pevné nebo kapalné látky, nebo jejich směsí v plynném prostředí [2]. Částice atmosférického aerosolu mají velikost od jednotek nanometrů po desítky mikrometrů [1]. Většina těchto částic je tedy menší než objekty, které lze rozpoznat lidským okem [3].

Vlastnosti částic přítomných v atmosférickém aerosolu lze popsat několika způsoby. Početní koncentrace částic v běžném prostředí nabývá hodnot od  $10^2 \cdot \text{cm}^3$  do  $10^8 \cdot \text{cm}^3$  vzduchu [1]. Tyto částice jsou dále charakterizovány ekvivalentním aerodynamickým průměrem nabývajícím hodnot  $10^{-9} - 10^{-5}$  m. Dále lze jednotlivé soubory částic charakterizovat jejich povrchem ( $10^{-12} - 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{m}^3$ ) nebo hmotností ( $10^{-6} - 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ ) v objemové jednotce.

Atmosférický aerosol lze podle charakteristických vlastností rozdělit na několik typů, mezi které se řadí např. mrak, mlha, opar, dým, kouř, sprej nebo prach [1]. Mraky mají okem rozlišitelné hranice a hustota jejich částic dispergovaných ve vzduchu je větší než jedno procento hustoty vzduchu. Mlha je souborem kapalných částic rozptýlených v atmosféře vznikajícím kondenzací saturovaných vodních par. Pokud takto vzniklý aerosol má výrazný vliv na viditelnost, lze ho označit za opar. Dým vzniká za vysokých teplot, kdy se vytvořené páry kondenzují za vzniku shluků nebo řetězců pevných částic. Tyto částice bývají menší než 50 nm. Kouř je podobný jako dým, ale kromě pevných částic obsahuje i kapalnou. Tento typ aerosolu vzniká při nedokonalém spalování. Sprej vzniká mechanickým působením na kapalnou látku, kdy se do vzduchu uvolňují hrubé kapalnou částice. Když tyto síly působí na pevnou látku, je vytvářen prach. Velikost takto vzniklých částic je větší než 0,5  $\mu\text{m}$ . Smog je obecné označení jakéhokoliv znečištění atmosféry, které je rozpoznatelné lidským okem. Jeho částice jsou kapalnou nebo pevnou a nebývají větší než 2  $\mu\text{m}$ . Termín smog bývá používán především v souvislosti se znečištěním městských oblastí. Dále lze rozlišit bioaerosol, který je tvořen živými nebo odumřelými organismy a jejich produkty. Řadí se k němu například bakterie, viry, houby nebo pyl.

Aerosol se dělí podle způsobu procesu jeho vzniku na primární a sekundární [1]. Pokud jsou částice emitovány do atmosféry přímo ze zdroje, jedná se o aerosol primární. Chemickou reakcí plynných látek atmosféry vzniká sekundární aerosol.

### 1.1.1 Velikostní frakce aerosolu

Velikostní frakce aerosolu lze definovat třemi způsoby [4]. Prvním z nich je rozřazení podle velikostní distribuce v atmosféře. Druhým je dělení aerosolu podle velikosti související s dopady na zdraví člověka v závislosti na průchodu částic do dýchacího systému. V třetím případě jsou rozřazovacími faktory mezní hodnoty velikostí v rámci

vzorkování atmosférického aerosolu, související především se standardizovaným hodnocením kvality ovzduší.

#### **1.1.1.1 Rozdělení dle modů**

Dle velikostní distribuce částic se atmosférický aerosol dělí na jemný a hrubý [1]. Navzájem je lze od sebe odlišit pomocí parametru, jímž je aerodynamický průměr částice, jehož hraniční velikost je 2,5  $\mu\text{m}$ . Idealizované schéma rozložení velikostí částic je zobrazeno na Obrázku 1. Zde lze vidět, že graf je multimodální, konkrétně obsahuje 4 píky charakterizující jednotlivé mody velikostní frakce. Tyto mody se od sebe liší nejen velikostí částic, ale i způsobem vzniku, distribucí a zániku, dále jejich složením a zdroji, odkud se dostávají do atmosféry [4].

Mod hrubých částic spadá svým rozsahem do oblasti od 2,5  $\mu\text{m}$  do několika desítek mikrometrů [1]. Hrubé částice jsou vytvořeny působením mechanických sil na pevnou nebo kapalnou hmotu. Příkladem jsou větrem zvěněné části rostlin, pyl, prach, dále mořský sprej obsahující soli nebo emise vzniklé při vulkanické činnosti, spalování uhlí nebo zpracování rud. Částice o velikosti několika jednotek  $\mu\text{m}$  se neuvolňují jednotlivě, ale ve vrstvách nebo ve shlucích. Takovéto částice zanikají sedimentací po několika hodinách až dnech. Jejich životnost se však prodlužuje, pokud dochází k turbulentnímu promíchání v přízemní vrstvě atmosféry.

Jemná frakce je nejčastěji tvořena částicemi organického nebo elementárního uhlíku, kovů a jejich oxidů, iontů síry, dusíku nebo vodíku [4]. U jemného aerosolu lze dále rozlišit mod akumulární, Aitkenův a nukleační.

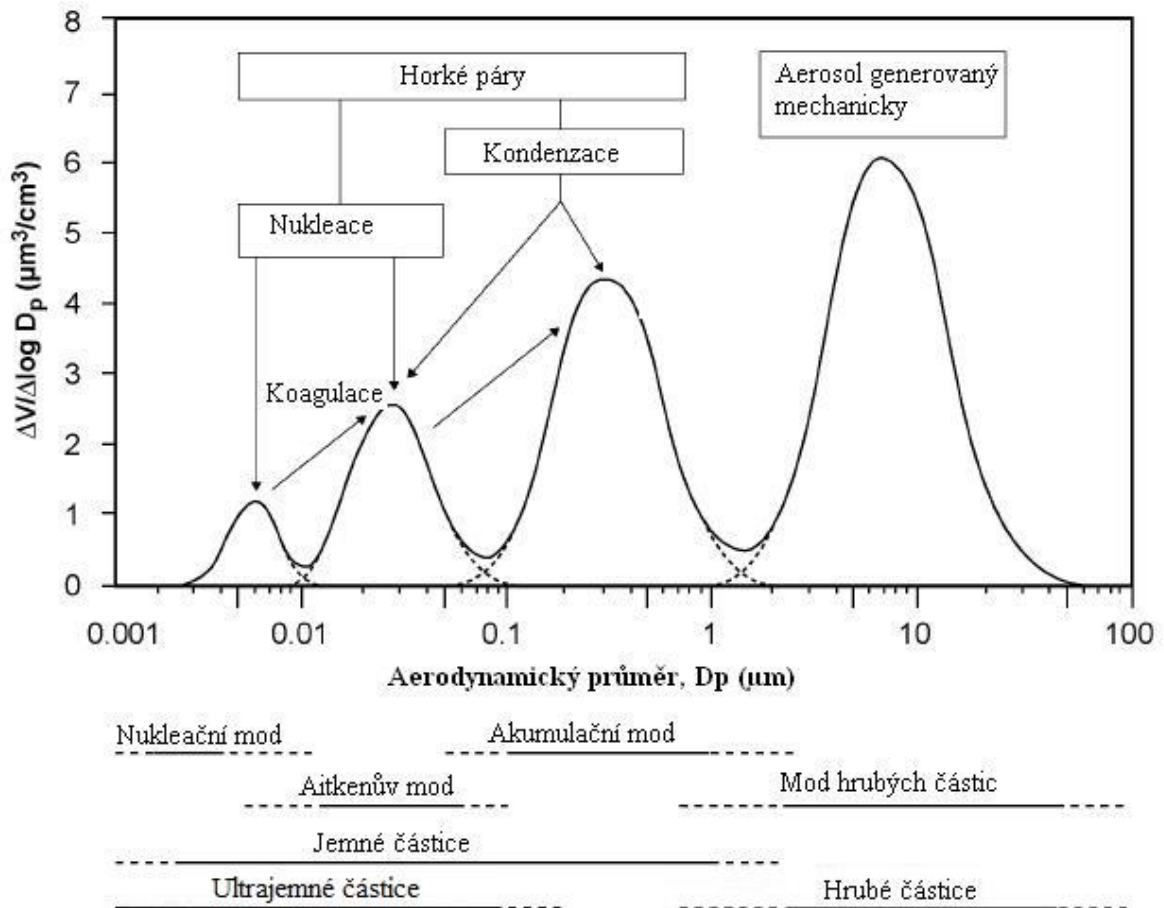
Částice nukleačního modu mají většinou kulatý tvar a aerodynamický průměr typicky v oblasti 15-40 nm [1]. Vznikají při fotochemických reakcích v atmosféře nebo kondenzací horkých par při hoření, tavení nebo svařování kovů a rud. Takto vzniklé částice se pak shlukují a řetězí za vzniku agregátů nebo koagulují s částicemi akumulárního modu, což vede k jejich odstranění z atmosféry. Částice nukleačního modu z atmosféry většinou vymizí do několika sekund až několika desítek minut od jejich vzniku.

Velikost částic Aitkenova modu je 10 až 100 nm [4]. Tyto částice vznikají při kondenzaci anebo koagulaci z menších částic. Zanikají obdobným způsobem jako nukleační částice.

Z jemných částic jsou v atmosféře nejvíce obsaženy ty, které se řadí do akumulárního modu [4]. Tyto částice tvoří velmi významnou část celkové hmotnosti atmosférického aerosolu [1]. Jejich aerodynamický průměr je od 0,1  $\mu\text{m}$  do 2,5  $\mu\text{m}$  [4]. Na vzniku těchto částic se podílí chemické reakce a kondenzace plynů, vody nebo jiných par na již existujících částicích [1]. Z atmosféry, kde setrvávají většinou po dobu několika dnů až týdnů, jsou odstraňovány mokrou depozicí, čili vypršením nebo vymytím.

Další skupinou jsou ultrajemné částice, jejichž objem v atmosféře ale není dost velký na to, aby je bylo možné rozlišit jako další mod [4]. Jejich průměr je maximálně 100 nm, což znamená, že se k nim řadí některé částice nukleačního a Aitkenova modu.

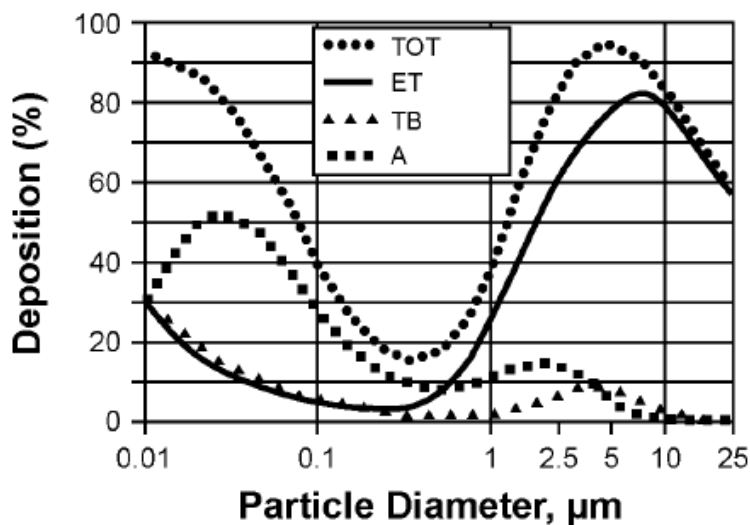
Z dlouhodobého hlediska zůstává aerosolu v atmosféře stejné množství, neboť při delším časovém úseku procesy zániku aerosolových částic vyrovnají procesy jejich vzniku [1].



Obrázek 1. Idealizované schéma velikostní distribuce částic atmosférického aerosolu [4]

### 1.1.1.2 Rozdělení dle dopadu na zdraví

Lidské tělo bývá vystaveno atmosférickému aerosolu zejména skrze dýchací soustavu [4]. Různě velké částice se mohou dostat do různé hloubky respiračního systému člověka. Dle velikosti se rozlišují tři frakce aerosolu – inhalační, thorakální a respirační. Částice inhalační frakce vstupují do horních cest dýchacích, kde mohou být zachyceny a následně z organismu odstraněny. Na rozdíl od nich je thorakální frakce schopná projít přes hrtan a dostat se až do bronchiálních a alveolárních oblastí dýchacího traktu. Respirační frakce může projít až do plic, kde může být zachycena. Tyto částice se poté mohou účastnit výměny plynů a procházejí až do krevního oběhu. Na Obrázku 2 je zobrazena depozice jednotlivých velikostních frakcí aerosolu v různých částech dýchací soustavy [5].



Obrázek 2 Depozice různých velikostních frakcí částic aerosolu při dýchání nosem dospělého člověka, podle částí dýchací soustavy (TOT – total respiratory tract, ET – extrathoracic, TB – tracheobronchial, A - alveolar)

### 1.1.1.3 Rozdělení dle selektivního sběru vzorků

Při odebrání vzorků PM je selektivně vybrána velikost částic, která bude zachycena [4]. Nejčastěji je vzorkováno  $PM_{10}$ ,  $PM_{2,5}$  nebo  $PM_1$ , přičemž číslo udává hraniční velikost částice v  $\mu m$ . Na vzorkovači je zachycena polovina částic hraniční velikosti. Pravděpodobnost záchytu menších částic se se zmenšující velikostí částice zvětšuje, a naopak pravděpodobnost záchytu větších částice se se zvětšující velikosti snižuje. Lze také vzorkovat  $PM_{10-2,5}$ , což odpovídá rozdílu obou frakcí.

$PM_1$  se používá pro definici malých částic procházejících do plic [4].  $PM_{2,5}$  je používáno k indikaci částic jemného aerosolu, čehož se využívá ke studiu expozice v epidemiologických výzkumech.  $PM_{10}$  indikuje částice schopných proniknout do hrudní části dýchací soustavy.  $PM_{10-2,5}$  se používá pro vzorkování thorakálních částic hrubé frakce. Kromě výše zmíněných lze vzorkovat také TSP („Total suspended particulate“), který zachytává kromě jemných částic i část hrubých, kdy mezní hodnota bývá stanovena na 25 nebo 40  $\mu m$ .

### 1.1.2 Hmotnostní koncentrace

Jednou z charakteristik atmosférického aerosolu je jeho hmotnostní koncentrace [6]. Jedná se o hmotnost PM v jednotce objemu atmosféry. Jednotkou jsou  $g \cdot m^{-3}$ ,  $mg \cdot m^{-3}$  nebo  $\mu g \cdot m^{-3}$ .

Pro  $PM_{10}$  a  $PM_{2,5}$  byly zavedeny regulační limity, které určují, jak velká koncentrace dané velikostní frakce se může vyskytovat v ovzduší, aniž by hrozilo zvýšené zdravotní riziko [7]. Tyto limity jsou zavedeny pro průměrnou 24hodinovou nebo roční koncentraci ve vnějším prostředí. V České republice jsou rovněž zavedeny limity pro vnitřní

prostředí, které stanovují maximální přípustnou průměrnou hodinovou hmotnostní koncentraci PM<sub>10</sub> a PM<sub>2.5</sub> [8]. Pro PM<sub>1</sub> však nebyly zavedeny imisní limity v ČR.

Pro měření hmotnostní koncentrace se využívají metody kontinuální, které provádí měření hmotnostní koncentrace v reálném čase, a metody gravimetrické, které měří průměrnou hmotnostní koncentraci během doby měření [9]. Gravimetrické metody využívají zachytávání částic aerosolu na filtr [10]. Tato měření zjišťují změnu hmotnosti filtru před vzorkováním PM a po vzorkování PM. Takto získaná hmotnost je poté podělena objemem vzduchu, který přes filtr prošel. Před vážením i po něm jsou filtry ponechány určitou dobu v čisté laboratoři za podmínek stálé teploty a vlhkosti, aby došlo k jejich ekvilibraci. Tím se zabrání případným chybám měření způsobeným změnou hmotnosti vody na filtru, a to jak vypařováním, tak adsorpcí. V této laboratoři pak také probíhá vážení filtrů, které musí být izolováno od okolních vibrací a vzdušného proudění, což by mohlo mít vliv nejen na proces vážení, ale i na uvolnění zachycených látek na filtru do okolí [11].

Vzorkovače PM většinou propouští k filtru částice o předem definované velikosti [11]. Výběr frakce umožňují separátory částic, mezi které se řadí impaktor, cyklon a elutriátor. Princip impaktorů spočívá v separaci částic na základě jejich hybnosti, kdy částice obsažené ve vzduchu procházejícím tryskami proti impakční desce jsou buď zachyceny, nebo projdou dále. Hraniční velikost zachytávaných částic je dána geometrií konstrukce trysek. Aby se částice od impakční desky neodrážely, je namazána olejem nebo tukem, což zvýší účinnost zachytávání. Během separace částic pomocí cyklonů dochází ke vzniku vzdušného víru. Působením odstředivé síly jsou částice dané velikosti hnány kolmo proti stěně trubice, kde jsou zachyceny na olejové nebo tukové vrstvě. Při separaci pomocí elutriátoru je nasáván vzduch do komory, kde dochází k jeho proudění směrem vzhůru. Pokud je rychlost usazování částic nižší než rychlost proudění vzduchu, pak částice projdou do vstupního otvoru, kde dochází k jejich zachycení.

Filtry používané při vzorkování aerosolů se dělí na dva hlavní typy: membránové a vláknité [11]. Nejčastěji používané membránové filtry jsou vyrobeny z teflonu, nitrát celulózy nebo nylonu. Druhý typ filtrů je tvořen vlákny, která jsou většinou křemenná.

Před použitím některých druhů filtrů je nutná jejich předúprava pro správné měření [11]. Například filtry z křemenných vláken je vhodné před vzorkováním vystavit vysokým teplotám (> 500 °C) pro odstranění organických sloučenin.

Pro eliminaci chyb plynoucích z úkonů při vážení filtrů byly vyvinuty metody umožňující měřit hmotnostní koncentraci „*in situ*“ [11]. Tyto metody umožňují získat více informací než při gravimetrickém stanovení hmotnosti a také je umožněno snímat hodnoty veličiny kontinuálně.

Metoda BAM (*Beta attenuation monitor*) využívá atenuaci beta záření na filtru s usazenými částicemi [12]. Pro získání útlumu záření způsobeného pouze PM a nikoliv filtračním materiálem se provádí odečet atenuace záření na filtru s usazenými částicemi od atenuace na filtru před jeho vystavením proudění vzduchu [13]. Útlum záření je

úměrný hmotnosti částic v daném objemu, kde úměrnost přibližně odpovídá exponenciálnímu vztahu. Tato metoda obvykle umožňuje sledovat průměr hmotnostní koncentrace jednou za hodinu. Je však nepřesná při velkém nasycení vzduchu vodní parou, která rovněž pohlcuje beta záření.

Kontinuální metoda TEOM (*Tapered Element Oscillating Microbalance*) umožňuje získávat údaje o hmotnostní koncentraci aerosolu jako průměr v časovém intervalu pěti minut [11]. Filtr zachytávající částice aerosolu je umístěn na výstupu duté skleněné trubice. Nárůst hmotnosti filtru způsobí změnu rezonanční frekvence oscilujícího kuželovitého nosiče, která je poté elektronicky detekována. Vzorkování a měření probíhá za konstantní teploty, která je vyšší než teplota okolního vzduchu. To umožňuje eliminovat odchylky měření způsobené roztažností kovových součástí. Teplota však nesmí být příliš vysoká, aby nedocházelo k vypařování vody či změně těkavějších látek.

Ještě častější intervaly měření hmotnostní koncentrace, a to průměrováním jednou za minutu, umožňuje piezoelektrický aerosolový hmotnostní monitor [14]. Depozice částic v tomto případě probíhá na krystalovém disku, čímž se změní i jeho rezonanční frekvence. Rozdíl této frekvence a frekvence referenčního krystalu je úměrný hmotnostní koncentraci PM.

### 1.1.3 Chemické složení

Atmosférický aerosol se dle původu dělí na přírodní a antropogenní a dále na primární a sekundární [1]. Primární aerosol se z přírodních zdrojů do atmosféry dostává převážně v hrubé frakci vznikající disperzí mořské vody, resuspenzí prachu, vulkanickou činností nebo ve formě bioaerosolu. Největší podíl hrubého aerosolu tvoří právě materiál zemské kůry s prvky jako křemík, vápník, hořčík, hliník nebo železo. Jemnou frakci pocházející z přírodních zdrojů zastupují především sekundární aerosoly jako jsou amonné ionty, dusičnany, sírany nebo organické látky vzniklé z biogenních těkavých organických látek (např. terpeny). Mezi antropogenní zdroje aerosolu patří především spalovací procesy využívané v energetickém průmyslu a při vytápění domácností a další průmyslové procesy, mezi které se řadí stavebnictví, zpracování kovů, nebo petrochemický průmysl [15]. Při těchto činnostech jsou do atmosféry emitovány kovy, nejčastěji ve formě oxidů [1]. Mezi významné látky, které jsou součástí jak hrubého, tak jemného aerosolu, patří kromě kovů také např. sloučeniny dusíku a organické látky jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky nebo karboxylové kyseliny.

Aerosol lze dále rozdělit podle lokace vzniku na městský, venkovský a pozad'ový [1]. Tyto typy rozlišuje hlavně jejich chemické složení ovlivněné zdroji v dané lokalitě. Zatímco pozad'ový aerosol je tvořen převážně částicemi z přírodních zdrojů, městskému aerosolu přispívají značnou měrou lokální antropogenní zdroje. Až polovinu městského aerosolu mohou tvořit částice emitované v souvislosti s dopravou, kdy zdrojem jsou nejen výfukové plyny, ale také opotřebením brzd, pneumatik a silnic [16].

Chemické složení aerosolu lze měřit offline nebo online metodami [10]. Při online metodách dochází k okamžité analýze vzorkovaného materiálu, zatímco při využití offline metod se po navzorkování v určitém časovém období, např. trvajícím 24 hodin, převezou vzorky do laboratoře, kde se následně zpracují.

### 1.1.3.1 Offline metody měření chemického složení

Při offline postupu jsou nejprve navzorkované sloučeniny na filtrech extrahovány do rozpouštědla a poté jsou analyzovány příslušnými metodami [17]. U sloučenin rozpuštěných ve vodě (anorganické ionty, karboxylové kyseliny) lze využít iontovou chromatografii, iontově selektivní elektrody, kolorimetrii, rentgenovou fluorescenční spektrometrii, nebo UV-VIS spektrometrii. Metody teplotní optické transmitance a teplotní optické reflektance jsou využívány při analýze uhlíkové složky aerosolu.

Iontová chromatografie využívá separace iontů na iontově výměnných kolonách za použití vhodného eluentu [17]. Tento eluent je volen dle skupiny cílových analytů. Jednotlivé zóny separovaných iontů jsou za kolonou většinou detekovány pomocí vodivostního detektoru.

Iontově selektivní elektrody (ISE, *ion-selective electrodes*) obsahují vnitřní standardizovaný elektrolyt a membránu, přes kterou může projít pouze jeden typ iontů [17]. Po jejich ponoření do roztoku dojde k výměně iontů vedoucí k iontové rovnováze. Změna elektrického potenciálu je poté vyhodnocena jako koncentrace iontů v roztoku.

Kolorimetrie využívá změnu zbarvení roztoku po přidání daného iontu [17]. Barevná změna je poté detekována UV-VIS spektrometrií. Absorpce specifické vlnové délky odpovídá danému typu iontů a velikost absorpce je úměrná koncentraci těchto iontů.

Při prvkové analýze se využívají metody nedestruktivní a destruktivní. Mezi nedestruktivní metody patří např. rentgenová fluorescenční spektrometrie (XRF, *X-ray fluorescence*), analýza emisního rentgenového záření (PIXE, *particle induced X-ray emission*) nebo instrumentální neutronová aktivační analýza (INAA, *Instrumental Neutron Activation Analysis*). Mezi nejpoužívanější destruktivní metody se řadí atomová absorpční spektrometrie (AAS, *Atomic Absorption Spectroscopy*) a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*).

Při XRF dochází k ozařování látky rentgenovými paprsky [17]. Elektrony jednotlivých prvků jsou excitovány a při návratu do základní energetické hladiny dojde k vyzáření energie charakteristické pro daný typ iontu.

PIXE využívá podobného principu jako rentgenová fluorescence [17]. K excitaci elektronů zde však není využito rentgenového záření. Místo toho je prvek vystaven proudem vysokoenergetického protonového svazku, v důsledku čehož dochází k emisím charakteristického rentgenového záření, které je detekováno.

Metoda INAA při analýze využívá proud neutronů, do kterého je vložen vzorek [17]. Výsledkem je vznik radioaktivních nuklidů, jejichž rozpad je následně doprovázen gama zářením s charakteristickou energií.

U metody AAS se kapalný vzorek nejprve zmlžuje a následně atomizuje [17]. Atomizace se provádí různými způsoby, například v plameni, elektrotermicky nebo generováním plynných hydridů. Poté jsou atomy vystavovány záření o vlnové délce, která je charakteristická pro daný prvek. Pokud vzorek obsahuje atomy daného prvku, je absorbována část záření, což je měřeno pomocí fotodetektoru. Množství absorbovaného záření je přímo úměrné koncentraci atomů daného prvku ve vzorku.

Při metodě ICP-MS je kapalný vzorek zmlžován a přiváděn proudem argonu do cely, kde je pomocí elektromagnetického pole udržována plazma [17]. Argonové plazma způsobuje, že se rozpouštědlo odpaří a z volných atomů se stávají ionty [18]. Ionizované atomy jsou dále unášeny do hmotnostního spektrometru. Tam jsou tříděny podle poměru hmotnosti a náboje, což umožňuje identifikaci jednotlivých prvků ve vzorku. ICP-MS umožňuje velmi rychlou detekci široké škály prvků (od lithia po uran) a to i o velmi nízkých koncentracích.

Pro analýzu organického a elementárního uhlíku v aerosolech (OC/EC, *organic/elemental carbon*) se používají metody teplotní optické transmitance (TOT, *thermal optical transmittance*) a teplotní optické reflektance (TOR, *thermal optical reflectance*) [17]. Vzorek je v několika teplotních krocích zahříván a je ozařován laserovým paprskem. Na základě různého průchodu, resp. odrazu, laserového paprsku při různých teplotách lze od sebe odlišit organický a elementární uhlík.

### 1.1.3.2 Online metody

Kompletní vyhodnocení složení navzorkovaného aerosolu obvykle probíhá i několik dní po vzorkování [17]. Pro potřebu rychlejší analýzy byly vyvinuty online metody, které kombinují analýzu chemického složení rovnou se vzorkováním částic v jednom nástroji. Výhodou těchto metod je automatizace procesu a mnohem kratší čas uplynutý od počátku vzorkování po vyhodnocení chemického složení vzduchu. To umožní lépe zachytit rychlé změny a včas reagovat na překročení limitů pro obsah škodlivých látek, a to v podstatě v reálném čase. Další výhodou je také zamezení kontaminace vzorku před analýzou, ke které by mohlo dojít při manipulaci a transportu vzorku. Tyto metody jsou kvůli možnosti jejich téměř nepřetržitého provozu také označovány jako kontinuální nebo semikontinuální.

Aerosolový hmotnostní spektrometr (AMS, *Aerosol Mass Spectrometer*) se používá pro analýzu přítomnosti organických a anorganických látek, a to ve vysokém časovém rozlišení [19]. Aerosolový hmotnostní spektrometr s vysokým rozlišením (HR-ToF-AMS, *High-Resolution Time of Flight Aerosol Mass Spectrometer*) využívá na vstupu systém fokusačních čoček, kde jsou přivedené částice svedeny do úzkého paprsku a dojde k jejich separaci, na základě jejich aerodynamického průměru. Detekce poté probíhá

pomocí hmotnostního spektrometru s metodou doby letu. [20]. Pro méně náročné analýzy je při dlouhodobém monitorování využíván monitor chemického složení aerosolů (ACSM, *Aerosol Chemical Speciation Monitor*) [19]. Tento monitor má ale nižší citlivost a horší hmotnostní rozlišení.

Další metody určené pro online analýzu sloučenin v aerosolu jsou založené na principu zachytu analytů do vody s následnou analýzou v reálném čase [21] [22]. Základním nedostatkem těchto metod je ale jejich nízká účinnost zachytu pro ultrajemnou frakci aerosolu. Z tohoto důvodu je nutné u těchto malých částic nejprve zvětšit jejich aerodynamický průměr pomocí supersaturace a následné kondenzace vodní páry. Takto je možné původní nanometrové částice zvětšit do velikosti několika mikrometrů [23]. Pro následnou analýzu lze použít buď konvenční separační metody jako je IC (*ion chromatography*) nebo speciálně vyvinuté průtokové analyzátory určené pro detekci konkrétní sloučeniny [24] [25].

#### **1.1.4 Vliv atmosférického aerosolu na zdraví**

Částice aerosolu se významně podílí na důležitých atmosférických dějích [6]. Mohou ovlivňovat lokální změny klimatu [26], zhoršení viditelnosti [27], a mohou také negativně působit na vegetaci [28], živočichy a jiné živé organismy [29]. Některé látky vázané na částice aerosolu mohou negativně ovlivnit lidské zdraví, což může vést až k předčasnému úmrtí [30]. Podle Franklina a kol. (2008) může nárůst koncentrace  $PM_{2,5}$  o  $10 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  zvýšit úmrtnost zhruba o půl procenta [31]. Cong a kol. prováděli průzkum ve více než 650 městech po celém světě a zjistili, že nárůst koncentrace  $PM_{10}$  o  $10 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  mělo za následek zvýšenou mortalitu až o 1,3 %, kdežto stejný nárůst koncentrace u frakce  $PM_{2,5}$  byl provázen zvýšením úmrtnosti až o 2,5 % [32]. Dlouhodobé vystavení se jemným částicím výfukových plynů zvyšuje riziko vzniku rakoviny plic [33].

Lidské zdraví ovlivňuje znečištění ovzduší přímo při dýchání, při kontaktu s pokožkou, nebo také nepřímo konzumací tekutin a potravy, kde se látky ze vzduchu usadily [1]. Míra ovlivnění lidského organismu závisí na koncentraci látky, délce a způsobu jejímu vystavení i fyziologických parametrech individuálního jedince. Vystavení se znečištěnému ovzduší může ovlivnit nervový systém, což dokonce může vést až k rozvoji Alzheimerovy nebo Parkinsonovy choroby [34]. Také může dojít k negativnímu ovlivnění kardiovaskulární a respirační soustavy, což se může projevit jako astma, arytmie, sípání, kašel, sucho v ústech nebo omezením dýchacích cest [35]. Dlouhodobé vystavení atmosférickému znečištění může zhoršit plicní funkce již u dětí a může vést až ke vzniku chronické obstrukční pulmonální nemoci (CHOPN). Hrozí také vznik srdečních nebo plicních karcinomů, které mohou výrazně zkrátit dobu života.

##### **1.1.4.1 Vliv kovů na zdraví**

Mezi hlavní polutanty atmosférického aerosolu negativně působící na lidské zdraví se vedle jiných prvků řadí také kovy [15]. Běžně přítomnými kovy ve vzduchu v městských

oblastech jsou olovo, kadmium nebo rtuť, které vznikají v továrnách při průmyslových procesech [36]. Nadměrná koncentrace inhalovaných kovů může vést k oxidačnímu stresu [37]. Inhalace kovových částic může způsobit onemocnění ledvin a jater, poruchy centrálního nervového systému, zhoršené vidění, nespavost, psychické poruchy u dětí a demenci u starších lidí, emoční nestabilitu a deprese [38]. Také může vést k horečce z výparu kovů [39]. V ČR jsou pro ochranu zdraví lidí zavedeny imisní limity koncentrace určitých kovů ve vzduchu při průměrování za kalendářní rok [7]. Pro olovo je tento limit roven  $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ , pro arsen  $0,006 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ , pro kadmium  $0,005 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  a pro nikl  $0,02 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ .

Olovo (Pb) je emitováno do ovzduší z motorů spalujících benzín nebo z průmyslových hutí a závodů na výrobu baterií [40]. Jedním z mechanismů, jak se olovo uvolňuje do atmosféry, je také obrušování kolejnic a při odvalování kol vlaků [41]. Dalším zdrojem pro člověka může být kontaminované jídlo nebo potrubní voda [36]. Kromě respirační soustavy zasahuje i reprodukční a nervovou soustavu [42]. Tam se účastní chemických procesů, např. se naváže místo vápníku, aniž by zastupovalo jeho funkci. V lidském těle se hromadí v krvi, kostech i měkké tkáni [40]. Kvůli jeho nesnadnému vyloučení z těla může ovlivnit játra a ledviny, způsobit poruchy spánku, ztrátu koncentrace, ztrátu paměti, snížení citlivosti, podrážděnost až agresivitu, dále anémii, zácpu a bolesti hlavy i břicha [42]. Dlouhodobé vystavení olova pak může způsobit i zvýšení krevního tlaku, neplodnost nebo omezení funkcí ledvin a trávicí soustavy. Vystavení olova by se obzvláště měly vyhýbat těhotné ženy. [36]. Během těhotenství a kojení dochází k uvolňování olova z těla matky, které přijímá plod nebo kojenec.

Kadmium (Cd) bývá člověkem nejčastěji přijímáno v potravě nebo inhalací cigaretového kouře [43]. Kromě tabákového kouře se do vzduchu dostává také při spalování fosilních paliv nebo odpadů, při výrobě některých slitin nebo jako vedlejší produkt při výrobě zinku [44]. Dalším zdrojem je obrušování kolejnic a kol vlaků [41]. Zvýšené riziko vystavení se kadmiu platí pro kuřáky, seniory a diabetiky [43]. Kadmium se, vzhledem k jeho obtížnému vylučování z těla, v lidském organismu hromadí a působí nepříznivě na tvorbu enzymů v buňkách [45]. Nejvíce ovlivňuje ledviny, kde dochází k odumření tubulárních buněk, což vede k proteinurii. Také zvyšuje riziko vzniku rakoviny plic a osteoporózy [36].

Rtuť (Hg) z ovzduší se akumuluje v půdě, kde se mění na methylrtuť a vodu [36]. Právě tato forma rtuti je vstřebatelná lidským tělem. Koncentrace rtuti ve vzduchu i ve vodě je v Evropě mnohem nižší, než kolik by jí bylo zapotřebí pro negativní účinky na člověka. Na tento kov jsou nejvíce citlivé lidské plody, jejichž kontaminování pochází většinou z ryb konzumovaných matkou. Právě ryby jsou jedním z nejvýznamnějších zdrojů rtuti v lidském těle.

Arsen (As) patří mezi nejvíce zdraví škodlivé kovy [46]. Do ovzduší se dostává většinou jako odpadní produkt průmyslu zpracovávajícího kovy, při spalování uhlí nebo

při vypalování vegetace [47]. Také se do ovzduší uvolňuje při obrušování kolejnic a kol vlaků [41]. Depozicí ze vzduchu a uvolňováním z arsenových pesticidů nebo z přírodních nerostů se pak může dostat do vody, do půdy, a tím i do potravy [48]. Otrava arsenem u člověka způsobí poruchu buněčného dýchání, tvorby buněčných enzymů a buněčného dělení mitózou [49].

Chrom (Cr) je esenciálním prvkem lidského těla, napomáhá regulovat hladinu cukrů, cholesterolu a podporuje metabolismus tuků [50]. Do ovzduší se emituje při spalování ropy a uhlí, z hnojiv nebo z odpadních vod [51]. Také je používán v průmyslu v metalurgii, při výrobě barev nebo papírů. Trojmocná varianta chromu je pro živé organismy téměř neškodná [45]. Šestimocný chrom je silně toxický a velmi negativně působí na rostliny, což se projeví zastavením růstu kořenů i klíčení semen nebo chlorózou listů [51]. Konzumace těchto rostlinných potravin je spolu s inhalací kontaminovaného vzduchu způsobem inkontaminace člověka chromem. V lidském organismu chrom poškozují dýchací soustavu (od podráždění nosu až po překrvení plic), játra a ledviny [52]. Působení chromu je spojeno také s podrážděním a poškozením zubů, očí i ušních bubínků. Může dojít k alergickým reakcím kůže nebo dokonce rakovině plic.

Hliník (Al) se přirozeně nachází ve vzduchu, vodě i půdě, kde je jedním z nejrozšířenějších prvků [53]. Toxicita hliníku se zvyšuje se snižujícím se pH půdy nebo vody [54]. Z toho důvodu v minulosti došlo k výraznému omezení zemědělského využití kyselých půd, aby nedocházelo k intoxikaci lidského organismu hliníkem z potravy. Hliník v lidském organismu je škodlivý pro kostní a nervové buňky.

Železo (Fe) je esenciálním prvkem, který je součástí některých enzymů a bílkovin zodpovědných za transport kyslíku v těle [55]. Při nadměrné koncentraci v lidském se železo akumuluje v játrech, srdci a mozku. Železem produkované volné radikály negativně reagují s DNA (deoxyribonukleová kyselina, *deoxyribonucleic acid*), což může vést u buněk k poškození nebo změnám, které mohou být maligní [56]. Ve vzduchu se často vyskytují železité ( $Fe^{3+}$ ) a železnaté ( $Fe^{2+}$ ) ionty [57]. Obě formy mohou mít negativní účinky na lidský organismus. Pole některých studií mají že železité ionty více negativní vliv pro lidské tělo než železnaté. Platí to např. v plazmě, kde více snižují aktivitu enzymů [58] nebo v kostech, kde mají větší inhibiční účinek na jejich mineralizaci [59].

Mangan (Mn) je esenciálním prvkem, který se uplatňuje při metabolismu, ovšem ve vysokých koncentracích je toxický [60]. Do atmosféry se uvolňuje přirozeně erozí některých hornin nebo při spalování a průmyslovém zpracování produktů obsahujících mangan. Vysoká koncentrace manganu v lidském těle (manganismus) se projevuje třesem, ztuhlostí, zpomalenými reakcemi, depresí nebo úzkostmi a může vést až k neuronální smrti nebo projevům podobným Parkinsonově nemoci. Dlouhodobá inhalace vzduchu s vysokým obsahem manganu může vést k poškození plic.

Nikl (Ni) patří mezi esenciální prvky [61]. Do atmosféry se dostává při spalování odpadů a fosilních paliv [62] nebo při obrušování kol vlaků a kolejnic [41]. Přírodními

zdroji jsou pak vulkanická činnost, lesní požáry nebo zvětrávání hornin. Vysoká koncentrace niklu ve vzduchu může způsobit podráždění kůže, přes kterou se nikl v jisté míře absorbuje z ovzduší do lidského těla. Vdechování může způsobit fibrózu dýchacích cest nebo rakovinu plic [63]. Nikl také může způsobit onemocnění ledvin nebo kardiovaskulární soustavy.

Vanad (V) je od ovzduší emitován spalováním fosilních paliv [64]. Inhalovaný vanad může způsobovat různá onemocnění kardiovaskulární a respirační soustavy. Někdy také může způsobit rakovinu nebo histologické změny buněk kůže ledvin nebo plic.

Zinek (Zn) se přirozeně vyskytuje v lidském těle [65]. Působí při syntéze DNA, růstu a dělení buněk nebo při imunitních reakcích. Do ovzduší se uvolňuje při průmyslové činnosti, a to hlavně v galvanovnách [66]. Dalšími zdroji jsou zvětrávání hornin nebo vulkanická činnost. Vystavení se zinku z ovzduší, ať už krátkodobě nebo dlouhodobě, obvykle nemá velký vliv na zdraví člověka, nicméně může způsobit některé kardiovaskulární problémy [67]. Ve vysokých koncentracích může zinek ovlivnit imunitní reakce nebo snížit obsah mědi v krvi, což může vést k vzniku menších červených krvinek, což v konečném důsledku ovlivní transport kyslíku [65].

Kobalt (Co) je rovněž esenciálním prvkem a je například obsažen v potřebném vitamínu B12. Zdrojem jeho přítomnosti v atmosférickém aerosolu je spalování odpadů nebo paliv, jako je uhlí, nafta nebo topný olej [68]. Kromě vzduchu může být člověk vystaven kobaltu také v intoxikované vodě nebo potravinách. Na kobalt ve vzduchu může kůže reagovat alergicky. Vdechování kobaltu může ovlivnit imunitu, kardiovaskulární a respirační soustavu člověka.

## 1.2 Inhalační biodostupnost

Inhalační biodostupnost aerosolových částic je důležitou vlastností pro pochopení škodlivosti daných látek [69]. Negativní vliv vdechovaných částic na lidský organismus závisí na více aspektech (např. velikost částic, místo depozice částice nebo rozpustnost jednotlivých látek) [70].

Velikost částic ovlivňuje místo jejich depozice v dýchací soustavě [69]. V případě, že jsou částice po vdechnutí opět vydechnuty, neprojeví se jejich škodlivé účinky. Právě poměr mezi absorbovanými částicemi a veškerými částicemi dané látky obsaženými v nadechovaném vzduchu je vyjádřen inhalační biodostupností. Tato vlastnost bere v úvahu i změnu podmínek, kterým jsou částice po vdechnutí vystaveny, mezi které patří vyrovnání na tělesnou teplotu a vlhkost. Jedna z definic biodostupnosti říká, že se jedná o zlomek absorbovaných chemikálií schopných dosáhnout systémové cirkulace organismu [71].

Inhalační biodostupnost závisí také na vlastnostech kapaliny, kde se látka rozpouští [72]. Z etického hlediska není možné provádět měření přímo na člověku nebo odebírat člověku jeho plicní kapalinu. Měření biodostupnosti se proto provádí na simulovaných

plicních kapalinách, které jsou navrhovány tak, aby se svým složením a vlastnostmi podobaly právě fyziologické plicní kapalině.

Měření biodostupnosti je možné provádět metodami *in vivo* nebo *in vitro* [73].

### 1.2.1 Metody *in vivo*

Metody *in vivo* využívají laboratorní zvířata (nejčastěji myši nebo krysy), která jsou vystavena různým koncentracím a velikostem částic obsahujících danou látku [73]. Danou látku je možné zvířeti aplikovat inhalačně nebo přímo do dýchací soustavy. Po usmrcení zvířete je analyzována koncentrace látky v jeho těle. Mohou být zkoumány různé tkáně nebo tělní tekutiny, jako je krev, plazma nebo bronchoalveolární kapalina. Lze se zaměřit na specifické orgány, např. játra, ledviny, srdce, plíce nebo mozek. Jednou z možností analýzy je také sledování poškození buněk zánětem, a to zkoumáním přítomnosti prozánětlivých proteinů. Damon a kol. (1984) se zabývali studiem biodostupnosti i zkoumáním zvířecích výměšků [74]. Campen a kol. (2001) zkoumali *in vivo* vliv intoxikace zvířete na termoregulaci a činnost srdce [75]. Zjistili, že různé kovy mohou způsobovat změny v měřených parametrech s různým zpožděním. Killingsworth a kol. (1997) studovali vliv inhalace popílku topného oleje na zvýšení krevního tlaku a mortality [76]. Kadiiska a kol. (1997) došli k závěru, že plicní tkáň potkanů prokazuje *in vivo* oxidační účinky přijatých PM [77]. Hypotermie, bradykardie a změny metabolismu byly parametry zkoumanými ve studii Watkinson a kol. (1993) [78]. Odeh a kol. v roce 2022 potvrdili vliv inhalovaného železa na vznik zánětu a narušení antioxidačního systému [79].

Nevýhodou *in vivo* testů je jejich finanční a časová náročnost, etická otázka manipulace se zvířaty a také komplikovanost převodu získaných výsledků u zvířat na člověka [80].

#### 1.2.1.1 Inhalační metoda

Při inhalační metodě musí být nejprve látka aerosolizována, např. rozprašováním [73]. Zvíře může být takto vzniklému aerosolu vystaveno celým tělem nebo jen částí [81]. Pro zajištění expozice pouze hlavou, nosem nebo ústy, se na hlavu zvířete nasazuje speciální maska. Pro zkoumání akutní, subchronické nebo chronické reakce lze nechat zvíře vystavit dané látce příslušně dlouho, a to od jednotek hodin až po několik měsíců.

#### 1.2.1.2 Instilační metoda

Přímé podání dané látky do dýchací soustavy je nazývána instalační metodou [82]. Tato technika se používá tehdy, kdy není možné nechat zvíře danou látku vdechovat. To se stává, pokud je daného vzorku příliš málo, aby mohl být vhodně aerosolizován, nebo pokud je daná látka příliš toxická a hrozil by únik látky mimo laboratoř. Místo podání látky může být kdekoli v respirační soustavě od dutiny nosní až po plíce [73]. S tím souvisí také náročnost tohoto procesu, kdy pro hlubší instilace musí být požity speciální kanyly a zvířeti je podána anestezie.

## 1.2.2 Metody *in vitro*

*In vitro* metody jsou potencionální alternativou k *in vivo* testům [83]. *In vitro* metody jsou jednodušší, levnější a méně časově náročné. To umožní provést více opakovaní měření.

### 1.2.2.1 Metoda expozice kultivovaných buněk

Jedna z metod *in vitro* testování biodostupnosti využívá kultivované buněčné kultury (zvířecí nebo lidské) [84]. Ty jsou po určitou dobu vystaveny látkám ve formě aerosolu nebo roztoku. Většinou jsou využity epitelální buňky plic nebo makrofágové buňky alveol [85]. Tyto monokultury hrají důležitou roli při vstřebávání látek při dýchání a také při tvorbě zánětů. Limitací této metody je, že v dýchací soustavě jsou přítomny desítky různých typů buněk podílejících se v menší nebo větší míře na absorbování látek ze vzduchu, ale měření bývá prováděno jen na jednom typu buněk [86]. Z toho důvodu je vhodnější použití více typů buněk zároveň, tzv. buněčných kokultur. Dalším zajímavým typem buněk jsou v tomto ohledu bronchiální fibroblasty, které mají důležitou roli při bioakumulaci kovů [87]. Kvůli nestejným mechanismům absorbování látek při běžném dýchání ze vzduchu a absorbování látek izolovanou tkání z roztoku lze využít toho, že buněčné kultury budou vystaveny aerosolizovaným látkám [88].

### 1.2.2.2 Metoda inhalační biodostupnosti

Testování *in vitro* inhalační biodostupnosti látek atmosférického aerosolu zkoumá podíl látek, které se rozpustí v simulované plicní kapalině (SLF, *simulated lung fluid*) [89]. Vzorek je v SLF extrahován, poté je odstraněn přebytečný nerozpuštěný vzorek (např. centrifugací nebo filtrací) a následně je stanoveno množství látky rozpuštěné v kapalině [73]. Extrakce probíhá po určitý předem definovaný čas, s mícháním, nebo bez něj, za teploty laboratorní nebo odpovídající teplotě lidského těla. Určení množství rozpuštěné látky je stanoveno např. pomocí ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem).

## 1.3 Oxidativní potenciál

Je mnoho patofyziologických mechanismů, kterými částice aerosolu působí na lidský organismus [90]. Jedním z nejčastějších parametrů používaných pro stanovení škodlivosti je měření hmotnostní koncentrace. Ta však není dostatečně komplexním parametrem pro posouzení závažnosti možných negativních účinků vzdušného aerosolu na lidské zdraví [91]. Hmotnostní koncentrace nezohledňuje různé velikosti a chemické složení PM. Někdy je majoritní složkou hmotnosti aerosolu látka, která má díky svému chemickému složení žádné nebo minimální toxikologické účinky, což pro daný vzorek PM znamená velmi malá zdravotní rizika. Jiné látky (např. těžké kovy) mohou mít výrazné toxikologické účinky již při malé koncentraci, a tedy při téměř nepatrnému příspěvku k celkové hmotnosti PM. Z toho důvodu se jeví jako nevhodné využívat hmotnostní koncentraci k určení toxikologických rizik PM. Hmotnostní koncentrace

rovněž nebere v potaz možné interakce mezi různými látkami v aerosolu, které mohou ovlivňovat výsledné působení látek na organismus. Byla snaha vytvořit jednotnou metriku toxicity, která bude zahrnovat, jak vliv hmotnostní koncentrace velikostních frakcí, tak vliv chemického složení [91]. Takovou metrikou by mohlo být měření oxidativního potenciálu.

Oxidativní potenciál (OP) je definován jako schopnost aerosolu nebo jejich komponent generovat a akumulovat reaktivní formy kyslíku (ROS, *reactive oxygen species*) [92]. Ty jsou navázány buď přímo na PM nebo jsou tvořeny v těle při interakci buněk či tkání s látkami obsaženými v inhalovaném aerosolu. Zahrnuje vlivy hmotnostní koncentrace, velikostních frakcí, chemického složení i vzájemných interakcí látek. Oxidativní potenciál bývá silněji spojen s akutními srdečními a respiračními onemocněními než hmotnostní koncentrace jemné frakce PM, což naznačuje, že OP může být relevantnější zdravotní metrikou než hmotnostní koncentrace PM [93]. ROS jsou obecně definovány jako molekuly obsahující kyslík s jedním nebo více nepárových elektronů [94], což je činí vysoce reaktivními. Mezi ROS patří např. superoxidový aniont ( $O_2^-$ ), hydrogenperoxid ( $H_2O_2$ ), hydroxylový radikál ( $OH^-$ ) a singletový kyslík ( $^1O_2$ ). Superoxidový aniont je označován jako primární ROS, protože zapříčiňuje vznik dalších jiných reaktivních forem kyslíku [95].

Reaktivní formy kyslíku jsou vytvářeny fyziologicky v těle při metabolismu kyslíku [96]. V nízkých koncentracích mají fyziologické přínosné funkce [97]. Slouží jako signální molekuly při řízení některých fyziologických funkcí, např. při imunitních reakcích a regulaci krevního tlaku. Určitou roli hrají také při adaptaci na stres [98]. Některé ROS vznikají i při ozařování, čehož se využívá při radioterapii, když radiolýzou vody vznikají ROS, které jsou toxické pro nádorové buňky a při správném zacílení minimalizují poškození okolní tkáně [99].

Nadměrná přítomnost reaktivních forem kyslíku je však spojena s negativními účinky na organismus. V důsledku zvýšené koncentrace ROS může dojít k oxidačnímu stresu [100]. K tomu dochází, když je narušena rovnováha mezi přítomností ROS a schopností biologického organismu tyto ROS odstraňovat. Oxidační stres je spojován se vznikem nebo progresí řady onemocnění, mezi které se řadí rakovina, cukrovka, poruchy metabolismu, ateroskleróza nebo kardiovaskulární choroby [101]. Reaktivní formy kyslíku mohou způsobovat poškození lipidů, proteinů a DNA vedoucí až k poškození buněk a tkání [100]. U lipidů dochází k peroxidaci, což vede k narušení buněčné membrány ovlivňující její permeabilitu [102]. Tím je ovlivněna celková funkčnost buňky, což může vést až ke vzniku nádorů. Oxidace proteinů negativně ovlivňuje homeostázu a metabolismus bílkovin [103]. Dochází k narušení syntetických a regeneračních procesů a může dojít ke strukturální degradaci, která vede ke vzniku různých onemocnění (např. kardiovaskulární nebo neurodegenerativní onemocnění). ROS mají vliv i na DNA [104]. Způsobují genotoxický stres, ovlivňují reakci buněk na poškození DNA, vedoucí k mutagenезi a následnému vzniku rakoviny. Dále mohou mít vliv také na enzymy, kdy

blokují jejich aktivní místo, čímž naruší jejich funkci [105]. Také byla zjištěna souvislost zvýšené hladiny ROS v tekutinách produkovaných pohlavními žlázami s neplodností, a to jak u mužů [106], tak u žen [107].

Antioxidační enzymy se podílejí na odstraňování ROS z těla [103]. Mezi tyto enzymy se řadí superoxiddismutáza (SOD), kataláza a glutathionperoxidáza (GPx). SOD přeměňuje superoxidový anion ( $O_2^-$ ) na peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ), který je dále štěpen na vodu a kyslík. Glutathionperoxidáza využívá glutathion při redukci hydroperoxidů a působí jako prevence peroxidace lipidů. K neenzymatickým procesům podporujícím eliminaci ROS se řadí látky zvané antioxidanty (např. vitamín C, vitamín E, karotenoidy), které vychytávají ROS. Rovnováhu mezi oxidačními a antioxidačními procesy také podporuje mitochondriální zdraví, které lze podporovat zdravým životním stylem, ke kterému patří pravidelná pohybová aktivita nebo zdravá strava [108].

Hodnoty oxidativního potenciálu PM bývají velmi variabilní [94]. Závisí na místech odběru, ročním období odběru a zdrojích přispívajících analyzovanému aerosolu. Podle Gerlofs-Nijland (2013) mají látky PM, jejichž zdrojem jsou emise při spalování motorů, rozdílný oxidativní potenciál v závislosti na použitém palivu [109]. PM vznikající při spalování biopaliv, jako je bionafta, má mnohem nižší oxidativní potenciál než částice výfukových plynů běžně používané nafty.

Metody měření oxidativního potenciálu lze rozdělit na celulární (buněčné) a acelulární (nebuněčné) [110]. Nebuněčné testy používají chemické látky, které napodobují fyziologické antioxidační procesy organismu. Tyto testy zkoumají v jak velké míře se dějí tyto antioxidační procesy, neboť to je úměrné přítomnosti ROS. Mezi nejčastěji používané patří test dithiothreitem, test kyselinou askorbovou a test kapalinou dýchacích cest, fluorescenční metoda a elektronová spinová rezonance [111]. Buněčné testy detekují přímo volné radikály v buněčných kulturách [110]. Acelulární testy jsou rychlejší a méně nákladové než buněčné testy, což umožňuje rychlejší proměření větších souborů dat [94].

### 1.3.1 Metoda testování pomocí dithiothreitolu (DTT)

Testování pomocí dithiothreitolu (DTT) je běžně používanou technikou pro měření oxidativního potenciálu PM [112]. Tato metoda je mj. vhodná pro studium oxidativních účinků kovů, neboť DTT je na jejich přítomnost citlivý [112].

DTT, známý také jako Clelandovo činidlo, je univerzální redoxní činidlo s chemickým vzorcem  $C_4H_{10}O_2S_2$  a působí jako acelulární náhrada fyziologických buněčných redukčních látek (např. NADPH) [113]. Dříve se kvůli svým malým redoxním vlastnostem používal jako ochranné činidlo při redukci disulfidových můstků v proteinech. Také se používal pro prevenci dimerizace atomů síry thiolované DNA.

Dithiothreitol za přítomnosti komponentů PM simuluje fyziologické reakce organismu [114]. Pokles koncentrace DTT je úměrný oxidativnímu potenciálu dané látky. DTT je oxidován redox-aktivními složkami PM za vzniku disulfidů a přenosu elektronů

z DTT na molekulární kyslík prostřednictvím redoxních reakcí [113]. Tak vzniká superoxidový aniont ( $O_2^-$ ) [115]. Ten pak dále může vytvářet další reaktivní formy kyslíku, např. peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ) nebo za přítomnosti kovů hydroxylový radikál ( $OH^-$ ). Se zbývajícím nezoxidovaným DTT reaguje Elmanovo činidlo (DTNB, 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina) za vzniku 2-nitro-5-thiobenzoové kyselina (TNB). Ta absorbuje světelné záření o vlnové délce 412 nm, což je měřeno pomocí UV-VIS spektrofotometrie. Rychlost spotřeby DTT je závislá na koncentraci DTT a reaktivních látek. Oxidativní potenciál PM je poté definován rychlostí spotřeby DTT normalizovanou hmotností PM. To je vyjádřeno v Rovnici (1).

$$OP_m^{DTT} = \frac{\Delta DTT}{t \cdot m}, \quad (1)$$

kde  $OP_m^{DTT}$  [ $pmol \cdot min^{-1} \cdot \mu g^{-1}$ ] je oxidativní potenciál,  $\Delta DTT$  [ $nmol$ ] je spotřeba DTT,  $t$  [ $min$ ] je specifikovaná reakční doba a  $m$  [ $\mu g$  nebo  $ng$ ] je hmotnost PM.

Je doporučeno volit hmotnost vzorku tak, aby došlo ke spotřebování méně než poloviny použitého DTT, což zajistí linearitu procesu spotřebovávání dithiothreitolu [113]. Často je  $OP_m^{DTT}$  udáván v jednotkách  $pmol \cdot min^{-1} \cdot \mu g^{-1}$ .

V jiných případech nebývá  $OP^{DTT}$  normalizován na hmotnost částic, ale na objem prosátého vzduchu při vzorkování aerosolu [93]. Pro tento případ pak vzorec pro výpočet je uveden v Rovnici (2).

$$OP_V^{DTT} = \frac{\Delta DTT}{t \cdot V}, \quad (2)$$

kde  $OP_V^{DTT}$  [ $pmol \cdot min^{-1} \cdot m^{-3}$ ] je oxidativní potenciál,  $\Delta DTT$  [ $nmol$ ] je spotřeba DTT,  $t$  [ $min$ ] je specifikovaná reakční doba a  $V$  [ $m^{-3}$ ] je objem prosátého vzduchu při vzorkování PM.

Oxidativní potenciál normalizovaný hmotností PM je též nazýván intrinsickou zátěží PM, což znamená, že je ovlivněn rychlostí vyčerpání antioxidantních mechanismů v závislosti na složení PM [116]. Oxidativní potenciál normalizovaný objemem prosátého vzduchu při vzorkování PM je poté nazýván extrinsickou zátěží PM, kdy je antioxidantní systém závislý na množství látek v nadechnutém objemu vzduchu. Berg a kol. (2019) použili normalizaci oxidativního potenciálu jak na hmotnost navzorkovaného aerosolu, tak na objem prosátého vzduchu při vzorkování zároveň, čímž získali jednu metriku zahrnující informace z obou způsobů normalizace [117].

### 1.3.2 Metoda testování pomocí kyseliny askorbové (AA)

Metoda stanovení OP kyselinou askorbovou je velmi podobná metodě využívající DTT [118]. V této metodě je využívána kyselina askorbová (AA), která je jedním z nejhojnějších antioxidantů nalezených v plicních kapalinách [119]. V této metodě se zkoumá rychlost vyčerpání kyseliny askorbové po smíchání s částicemi PM. Pomocí UV-VIS spektrometru se zkoumá úbytek absorbance v několika časech na vlnové délce 265 nm, na které je kyselina askorbová nejvíce absorbována. Při měření v pravidelných

intervalech lze vidět lineární pokles, který je úměrný oxidativnímu potenciálu [120].

### 1.3.3 Metoda pomocí glutathionu (GSH)

Glutathion (GSH) hraje důležitou roli v řadě fyziologických procesech, jako je imunitní odpověď, syntéza DNA a zmírňování oxidačního stresu vychytáváním volných kyslíkových radikálů [121]. Nachází se v mitochondriích, kde se účastní buněčného dýchání. Při nadměrné koncentraci ROS dochází k oxidaci GSH na GSSG (glutathion disulfid). Běžně jsou tyto dvě látky přítomny v poměry zhruba 100:1, zatímco při oxidačním stresu je tento poměr zmenšen až k hranici 10:1 [122]. Pro stanovení oxidativního potenciálu pomocí glutathionu je využíváno detekce přítomnosti GSH, GSSG nebo jejich vzájemného poměru pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC, *high-performance liquid chromatography*) [123].

### 1.3.4 Metoda pomocí kapaliny dýchacích cest (RTLFL)

Modifikací metody kyselinou askorbovou je metoda používající kapalinu dýchacích cest (RTLFL – *respiratory tract lining fluid*) [124]. Tato metoda lépe vypovídá o reálných fyziologických reakcích v plicích. Kromě změny koncentrace kyseliny askorbové je zde také měřen pokles glutathionu (GSH) a kyseliny močové. Tyto látky jsou běžně obsaženy v plicích a mají za úkol chránit plíce proti ROS. V časových intervalech je úbytek těchto antioxidantů stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC – *high-performance liquid chromatography*). V některých případech je použit UV-VIS spektrometr nebo determinace množství GSH pomocí enzymů.

### 1.3.5 Metoda pomocí dichlorofluorescinu (DCFH)

Tato metoda se primárně využívá k detekci ROS přímo vázaných na částice aerosolu s využitím fluorescenčních technik [125]. Částice se nechávají suspendovat v činidle a následně je měřeno spektrum specifických vedlejších produktů oxidace. Principem metody je oxidace dichlorofluorescinu (DCFH) v přítomnosti ROS za vzniku dichlorofluoresceinu (DCF), který je na rozdíl od DCFH fluorescenční. DCF bývá excitováno elektromagnetickým vlněním o vlnové délce 485 nm [126]. Spektrum emisního spektra má potom pík zhruba na vlnové délce 530 nm. Intenzita fluorescenčního záření je úměrná množství ROS vázaných na PM [125]. Kvůli katalýze reakce se DCFH smíchává s avidin-peroxidázou (HRP, *horseradish peroxidase*) v pufru fosforečnanu sodného.

### 1.3.6 Metoda elektronové spinové rezonance (ESR)

Metoda elektronové spinové rezonance je na techniku, která snímá přímo volné radikály, pomocí detekce přítomnosti nespárovaných elektronů [127]. Nejvíce však detekuje nereaktivní radikály, protože těch reaktivních se nehromadí tolik, aby je ESR stihla detekovat před jejich zánikem. Pro řešení tohoto problému jsou přidávány tzv. spinové pasti, které reagují s reaktivními radikály za vzniku stabilních radikálů. Ty jsou pak

pomocí ESR detekovány. Často jsou jako spinové pasti používány sloučeniny dusíku, které reagují s nestabilními radikály za vzniku stabilních nitroxidových radikálů [128]. Nepřesnosti měření může způsobit fakt, že vychytávání mnoha volných radikálů probíhá mnohem pomaleji než jejich vychytávání buněčnými antioxidanty. Například superoxiddismutáza a askorbát tak mohou bránit detekci  $O_2^-$  v buňkách a tkáních. Nevýhodou této metody je vysoká cena a nedostatečná citlivost vzhledem k nízké koncentraci a krátké životnosti ROS [127].

### 1.3.7 Online metody

Online metody jsou vyvíjeny k vyhodnocení oxidativního potenciálu v reálném čase [119]. Umožňují sledovat změny OP v závislosti na měnících se podmínkách. Při online metodách na sebe navazují systémy vzorkovací, transportní a detekční. Dochází tedy k urychlení a zautomatizování celého procesu. Vždy probíhá nejprve vzorkování PM po určitou dobu a poté je automaticky proveden zbytek analýzy. Je nutné volit kompromis mezi časovým rozlišením naměřených dat a dostatečně dlouhým časem pro navzorkování PM, které vyvolá dobře detekovatelnou odezvu.

Campbel a kol. (2019) rozvíjeli metodu online využití kyseliny askorbové k určení oxidativního potenciálu částic aerosolu již při vzorkování aerosolu, kde byly pomocí denuderu s aktivním uhlím odstraněny těkavé látky [129]. Poté byly částice zachytávány na zvlhčeném filtru a rovnou extrahovány do roztoku kyseliny askorbové. Oxidující částice reagovali s kyselinou askorbovou za vzniku kyseliny dehydroaskorbové (DHA). Ta zreagovala s přidaným o-fenylendiaminem (OPDA) za vzniku fluorescenčního DFQ (3-(1,2-dihydroxyethyl)fluor[3,4-b]chinoxalin-1-on). Koncentrace DFQ, která je úměrná množství spotřebované AA a tedy i  $OP^{AA}$ , je stanovena pomocí fluorescenční spektroskopie. To umožní snímat oxidativní potenciál každých 20 minut.

Venkatachari a kol. (2009) modifikovali DCFH metodu, aby bylo možné provádět měření online [130]. Při této metodě je PM vzorkován a ihned přesunut transportním systémem, aby byl extrahován do vodné suspenze s kapalinou a roztokem DCFH. Ihned poté je sledována přítomnost DCF s využitím jeho fluorescenčních vlastností. Kvůli urychlení reakce je přidáváno HRP v pufru fosforečnanu sodného. Výhodou této metody je užití v terénu, neboť DCFH lze uchovávat až 3 dny při pokojové teplotě, aniž by došlo k jeho degradaci.

Metoda DTT je jednou z nepoužívanějších metod a zároveň jednou z nejčastěji modifikovaných metod pro online využití [119]. Po navzorkování a extrakci PM do kapaliny s roztokem DTT je elektrochemicky snímána postupně se snižující koncentrace DTT [131]. Je využito řady pracovních, referenčních a pomocných elektrod. Tato detekce probíhá mikrofluidně. Rychlou detekci (až po 30 minutách) umožňuje využití extrakce PM pomocí zařízení na bázi mikrofluidního papíru a následnou kolorimetrickou detekci úbytku DTT [132]. Jiný přístup využívá kapalinový vzorkovač aerosolu [133]. Ten provádí vzorkování do tří laminárních proudů kapaliny o definované

rychlosti, která souvisí s velikostní frakcí PM. Následně je detekován úbytek DTT v kapalině pomocí světelné absorbanční spektroskopie. Berg a kol. (2017) vyvinuli online metodu, která umožňuje stanovit oxidační potenciál až šestkrát za hodinu [114]. Tato metoda využívá vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii s elektrochemickou detekcí nebo detekcí absorbance v UV-VIS oblasti, kde je stanovena rychlost úbytku DTT přidaného k navzorkovanému PM. Taková metoda je efektivní a umožňuje ušetřit velkou část nákladů na materiál.

## 1.4 Simulované plicní kapaliny

Simulované plicní kapaliny (SLF, *simulated lung fluids*) jsou specifickou skupinou simulovaných biologických kapalin (SBF, *simulated biologic fluids*) [134]. SBF jsou používány při testech *in vitro*, kdy je cílem studovat interakce látek v prostředí biologického organismu. Lze je tak potenciálně využít při odhadu interakce látek s biologickým prostředím *in vivo*. Důležitými aspekty při testování pomocí SBF jsou kromě chemického složení také další vlastnosti, jako je teplota, pH, obsah proteinů nebo iontů. Studovat lze biologickou dostupnost (uvolnění látek do těla) nebo biologickou durabilitu (odolnost vůči chemickému nebo fyzikálnímu odstranění z těla). Mezi SBF patří např. tekutiny simulující pot, kožní maz nebo trávicí tekutiny. Simulované plicní kapaliny mají napodobovat vlastnosti kapaliny přítomné v plicním prostředí. V intracelulární oblasti plic jsou kapaliny obsahující fagocyty. Extracelulárními kapalinami pak jsou výstelková kapalina plic a intersticiální kapalina obsahující makrofágy [135]. Plicní výstelková kapalina uvolňuje povrchové napětí alveol při dýchání, čímž zabraňuje poškození plic a celkovému kolapsu dýchacího systému [136]. Skládá se z alveolární kapaliny a surfaktantu. V kapalině v alveolách je větší obsah bílkovin než v horních cestách dýchacích [137]. Přirozené pH kapaliny plic je neutrální [138]. Při vniku cizorodého tělesa do alveol se však pH může snížit ke kyslejšímu hodnotám v důsledku přítomnosti zánětu [136]. Ve snaze přiblížit se vlastnostem fyziologické plicní kapalině bylo vytvořeno několik SLF [134].

Pro studium plicní biodostupnosti některých látek testy *in vitro* byly v minulosti použity i velmi jednoduché kapaliny, mezi které patřila čistě deionizovaná voda [139] nebo roztok kuchyňské soli (NaCl) [140]. Pro přesnější měření se však využívají kapaliny s mnohem složitějším chemickým složením [134]. Mezi nejpoužívanější SLF patří Gamblův roztok a jeho modifikace, Hatchův roztok nebo umělá lysozomální kapalina.

### 1.4.1 Gamblův roztok

Nejčastěji používanou SLF pro testování interakce plicních kapalin s inhalovatelnými látkami z vnějšího prostředí je Gamblův roztok či jeho modifikace [134]. Jedná se také o jednu z nejstarších uměle vytvořených plicních kapalin. Gamblův roztok původně vznikl jako replika extracelulární kapaliny kosterního svalstva [134]. Následně byl upravován, aby lépe odpovídal potu, slzám, hlenu, slinám nebo kapalině výstelky plic,

což jsou kapaliny nacházející se na rozmezí vnějšího a nitřního prostředí organismu, jako je kůže, trávicí trakt a dýchací systém. Gamblovův roztok obsahuje sodné, draselné, vápenaté a hořečnaté kationty a chloridové, hydrogenuhličitanové, hydrogenfosforečnanové a síranové anionty [141]. Tyto ionty jsou obsaženy v koncentracích podobných těm naměřeným v plicní výstelkové kapalině. V Gamblově roztoku jsou makromolekuly jako lipidy a proteiny nahrazeny solemi kyseliny octové a kyseliny citronové. To mělo zabránit mikrobiální kontaminaci [142]. Gamblovův roztok má neutrální hodnotu pH 7,4 [141]. Je nazýván také jako simulátor plicní epitelální výstelkové kapaliny (*lung epithelial lining fluid simulant*) [143]. V různých výzkumech byl Gamblovův roztok různě modifikován ve snaze lépe charakterizovat fyziologickou plicní kapalinu [73].

#### 1.4.2 Modifikace Gamblova roztoku

Gamblovův roztok lze modifikovat přidáním proteinů nebo aminokyselin [73]. To napomáhá chelataci kovů v kapalině. Morrow a kol. (1968) přidávali celé proteinové komplexy [144], zatímco Twining a kol. (2005) používali pouze určité druhy proteinů nebo aminokyselin [145]. Specifickým proteinem použitým při modifikaci Gamblova roztoku byl hovězí sérový albumin. Boisa a kol. (2014) přidali také mucin, který se také fyziologicky vyskytuje v plicní kapalině [146]. Kanapilly a kol. (1973) místo výše zmíněných látek použili pouze glycin [147]. Eidson a Mewhiny (1980) se však jako účinnější chelát jeví použití aminokyseliny L-cysteinu [148].

Vyšší množství albuminu ( $10 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) bylo použito při výrobě kapaliny, která byla nazvána Hatchův roztok [73]. Ten obsahuje kromě albuminu, který je přirozeným proteinem nacházejícím se v krevní plazmě, i enzymy přirozeně se vyskytující v kapalinách v plicích [149]. Tyto látky jsou zde použity namísto citrátu, který nahrazuje fyziologické organické složky [134]. Použitým enzymem je apo-transferin, což je enzym krevní plazmy spolupodílející se na transportu železa [149]. Právě díky této látce může interakce kapaliny s tímto kovem lépe charakterizovat fyziologické chování [143]. Koncentrace látek v Hatchově roztoku byla zvolena tak, aby výsledné pH mělo hodnotu shodnou s pH původního Gamblova roztoku [149]. Hatchův roztok lze v literatuře najít též pod názvem umělá plicní výstelková kapalina (*artificial lung lining fluid simulant*) [143]. Studie naznačují, že by Hatchův roztok mohl být vhodnější pro hodnocení biologické rozpustnosti kovů díky jeho složení, které je bližší složení kapalině v plicích [143]. Jeho nevýhodou však může být horší stabilita hodnoty pH a tvoření sraženin, což může způsobovat např. problémy při filtraci.

Jiný druh modifikace Gamblova roztoku byl označen jako „simulátor séra“ [147]. V tomto případě bylo provedeno mnoho změn oproti původnímu Gamblovu roztoku, tudíž tato rozlišnost chemického složení může být nevýhodou [73]. Nebylo zde použito octanu, hořečnatých ani draselných iontů [147]. Místo toho byla přidána kyselina sírová. Pomocí chloridu amonného bylo pH stabilizováno na 7,3.

„Ultrafiltrát séra“ je označení upraveného Gamblova roztoku přidáním L-cysteinu jako chelatačního činidla a kyseliny diethylentriaminpentaoctové pro vysrážení nežádoucích iontů [148]. Hořečnaté a vápenaté ionty zde byly nahrazeny ionty amonnými.

Jiná modifikace dostala název „simulovaná kapalina plicního surfaktantu“ [142]. Byla vytvořena použitím dvou plicních povrchově aktivních látek, kterými byly dipalmitoyl lecitin a dipalmitoyl fosfatidyl cholin. Tyto látky představují části plicního surfaktantu odpovědné za změnu povrchového napětí alveol při dýchání.

Další úpravy Gamblova roztoku byly provedeny za předpokladu, že plicní kapaliny obsahují větší množství antioxidantů a organických kyselin [150]. Konkrétní složení přidávaných látek bylo však v různých studiích různé. Boisa a kol. (2014) použili kyselinu askorbovou, glutathion a kyselina močovou [146]. Berlinger et al. (2008) k tomu ještě přidali lysozym,  $\alpha$ -tokoferol, d-glukózu a apo-transferin [143]. Takaya a kol. (2006) místo výše zmíněných využili tartrát, laktát a pyruvát [151].

Alveolární makrofágy během několika hodin pohltnou část inhalovaných částic, a proto byla v některých studiích snaha modifikovat SLF tak, aby se více podobala alveolární makrofágové kapalině [73]. Snaha o dosažení těchto vlastností byla provedena snížením pH na hodnotu 4,5 přidáním kyseliny chlorovodíkové nebo použitím pufrů [152].

#### **1.4.3 Simulovaná epitelální kapalina plic (SELF)**

Simulovaná epitelální kapalina plic (SELF, *Simulated epithelial lung fluid*) byla vytvořena ve snaze co nejlépe napodobit kapalinu nacházející se v plicích [153]. Zde bylo použito několik látek v podobných koncentracích, v jakých se nacházejí v kapalinách dýchacích cest zdravých lidí. Těmito látkami byly kyselina askorbová, kyselina močová, glutathion a dipalmitoyl fosfatidyl cholin, který je jedním z hlavních lipidů v kapalinách lidského dýchacího traktu. To napodobilo vlastnosti povrchově aktivních látek v tekutinách dýchacích cest. Albumin a mucin byly přidány v koncentracích, v jakých se vyskytují v plicních kapalinách [146]. Tyto dvě látky zastupují hlenovou složku kapaliny. Ve fyziologických koncentracích jsou přítomny rovněž organické kyseliny glycin a cystein. Jejich fyziologický význam je protizánětlivé působení na endotelální tkáň [154]. Dále byly obsaženy anorganické ionty zmíněné u složení Gamblova roztoku [146].

#### **1.4.4 Simulovaná kapalina plicních sklípků (SAF)**

Simulovaná tekutina plicních sklípků (SAF, *simulated alveoli fluid*) byla navržena na Oddělení analytické chemie životního prostředí Ústavu analytické chemie AV ČR v Brně a má simulovat kapalinu vyskytující se v alveolech [157]. SAF má hodnotu pH 7,4. Skládá se z vápenatých iontů ve fyziologické koncentraci, dipalmitoyl fosfatidyl cholinu a pufru, který udržuje stabilní hodnotu pH. Povrchové napětí této simulované alveolární kapaliny je přes své jednodušší složení bližší fyziologickým hodnotám oproti některým jiným SLF.

#### 1.4.5 Umělá lysozomální kapalina (ALF)

Na rozdíl od výše uvedených kapalin, umělá lysozomální kapalina (ALF, *artificial lysosomal fluid*) byla vytvořena jako napodobenina lysozomální tekutiny [134]. Ta se liší od kapaliny vystylající plíce tím, že obsahuje proteolytické enzymy a látky odpovědné za štěpení pohlcených částic. Tím je ovlivněno pH, které je sníženo až k hodnotě 4,5. Umělá lysozomální kapalina tedy byla vytvořena jako analogie kapaliny, se kterou vdechované částice přicházejí do styku po fagocytóze alveolárními a intersticiálními makrofágy v plicích [158]. Složení ALF je podobné Gamblovu roztoku, ale většina látek je přítomna v menších koncentracích. Úplně vynechány jsou hydrogenuhličitan sodný a kyselina mléčná. Navíc jsou přidány tartrát, laktát a pyruvát, které spolu s citrátem, který mají nahradit funkci proteinů ve skutečné lysozomální tekutině, což je degradace pohlcených cizorodých částic. Místo organických kyselin je použit acetát.

#### 1.4.6 Fagolysozomální simulační kapalina (PSF)

Fagolysozomální simulační kapalina (PSF, *Phagolysosomal simulant fluid*) je alternativou k ALF [134]. Rozdílem je nepoužití kyseliny citrónové, která je nahrazena ftalátem draselným, který zajišťuje kyselost prostředí [159].

#### 1.4.7 Přidání fyziologické kapaliny

Některé studie se snažily zvýšit relevantnost použité kapaliny při *in vitro* testech vůči chování *in vivo* [134]. Kvůli tomu došlo ke smíchání simulované plicní kapaliny s kapalinou fyziologicky se vyskytující v plicích. K tomuto účelu bylo využito plicního extraktu nikoli lidského, ale hovězího [160]. Změny ve výsledcích měření po této modifikaci však nebyli velké.

#### 1.4.8 Curosurf

Curosurf je přírodní surfaktant, který je připravován z prasečích plic [161]. Většinu jeho složení tvoří polární lipidy, z nichž téměř tři čtvrtiny množství je fosfatidylcholin. Zhruba 1 % curosurfu jsou specifické proteiny (SP-A, SP-B, SP-C, SP-D) o nízké molekulární hmotnosti, které jsou hydrofobní. Složení Curosurfu v porovnání se složením přirozeného surfaktantu je v Tabulce 1. Curosurf je určen k endotracheopulmonální instilaci pacientovi. Byl vytvořen za účelem léčby nezralých novorozenců, u kterých je riziko vzniku nebo propuknutí syndromu dechové tísně. Syndrom dechové tísně je způsoben nedostatečným množstvím plicního surfaktantu, který snižuje povrchové napětí v alveolech, čímž umožňuje dýchání. Plíce proto kolabují a pro novorozence je dýchání velmi obtížné nebo nemožné. Pomocí Curosurfu lze léčit novorozence také s jinými známkami nedostatku surfaktantu [161].

Tabulka 1 Chemické složení přirozeného surfaktantu a Curosurfu [162] [163].

Látka	Přirozený surfaktant	Curosurf
Fosfatidylcholin	70-85	67-74
Lysofosfatidyl cholin	0,5	<1
Sfyngomyelin	5	8,1
Cholesterol	5	0
Fosfatidylinositol	4-7	3,3
Fosfatidylserin	5	
Fosfatidylethanolamin	3	4,5
Fosfatidylglycerol	7-10	1,2
SP-A	4	0
SP-B	1	0,3
SP-C	1	0,7
SP-D	4	0

## 2. PRAKTICKÁ ČÁST

### 2.1 Cíle

#### 2.1.1 Cíle diplomové práce

Cílem diplomové práce je stanovení biodostupnosti PM městského aerosolu, stanovení oxidativního potenciálu standardních roztoků vybraných kovů a oxidativního potenciálu městského aerosolu pomocí simulovaných plicních kapalin.

#### 2.1.2 Dílčí cíle diplomové práce

Literární rešerše na témata atmosférického aerosolu, vlivu kovů na lidské zdraví, inhalační biodostupnosti a oxidativního potenciálu simulovaných plicních kapalin.

Stanovení hmotnostní koncentrace kovů v submikronové frakci městského aerosolu

Stanovení a porovnání biodostupnosti navzorkovaného městského aerosolu pro různé simulované plicní kapaliny.

Stanovení a porovnání oxidativního potenciálu standardních vzorcích kovů pro různé simulované plicní kapaliny.

Stanovení a porovnání oxidativního potenciálu navzorkovaného městského aerosolu pro různé simulované plicní kapaliny.

### 2.2 Použité přístroje

Velkoobjemový vzorkovač aerosolu DHA-77 (Digitel, Švýcarsko) byl použit pro vzorkování městského aerosolu. UV-VIS spektrometr DU-520 (Beckman, USA) z Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i., byl použit při stanovení oxidativního potenciálu. Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS/MS 8800 (Agilent Technologies, Německo) z Centra dopravního výzkumu, v. v. i., byl použit při stanovení hmotnostní koncentrace kovů a biodostupnosti kovů v SLF. Mikrovlnný mineralizátor UltraWAVE (MA 149-010, Milestone) byl použit pro rozklad vzorků z filtru. Čistička traceCLEAN (Milestone, Dánsko) byla použita pro čištění skleněných zkumavek použitých při rozkladech filtrů. Analytické mikrováhy M5P ( $\pm 1 \mu\text{g}$ , Sartorius, Německo), byly použity při určení hmotnostní koncentrace PM.

### 2.3 Použité chemikálie

Jednoprvkové standardní roztoky firmy Analytika o koncentraci  $1000 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1} \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  byly použity pro přípravu kalibračních roztoků kovů pro stanovení celkové a rozpustné koncentrace pomocí metody ICP-MS. Kalibrační roztoky byly okyseleny koncentrovanou podvarově destilovanou kyselinou dusičnou a naředěny ultračistou vodou s vodivostí  $0,055 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  (Merck, Německo).

Referenčními materiály pro kontrolu správnosti (kalibraci a nastavení přístroje) zvolené analytické metody na ICP-MS byly referenční materiál SRM 1640a (National Institute of Standards and Technology, 2010); *Trace elements in natural water*, referenční materiál SLRS-6 (NRS-CNRC, 2016); *River water Certified Reference material for Trace metals and other Constituents*, referenční materiál ERM – CZ120 (IRMM - ERM, 2010) Fine Dust (PM10-like).

Deionizovaná voda (DW, *deionized water*) s vodivostí  $0,055 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  (Ultra Clear UV Plus TM, Evoqua Water Technologies, Německo). byla použita při rozkladu filtrů se vzorky a přípravě SLF.

Pro stanovení oxidativního potenciálu byly na přípravu standardních roztoků Cu, Mn, Ni, Cr, Zn, Co, Fe, Pb, V a Cd použity pentahydrát síranu měďnatého (p.a., Lach Ner), tetrahydrát chloridu manganatého (p.a., Lach Ner), hexahydrát chloridu nikelnatého (p.a., Lach Ner), hexahydrát chloridu chromitého (p.a., Sigma Aldrich), heptahydrát síranu zinečnatého (p.a., Lach Ner), hexahydrát chloridu kobaltnatého (p.a., Lach Ner), hexahydrát chloridu železitého (p.a., Sigma Aldrich), heptahydrát síranu železnatého (p. a., Penta), dusičnan olovnatý (p.a., Lach Ner), metavanadičnan sodný (99,9 %, Sigma Aldrich) a tetrahydrát dusičitanu kademnatého (98 %, Sigma Aldrich).

Pro stanovení oxidativního potenciálu pomocí DTT testu byly použity DL-Dithiothreitol (>98 %, TCI), kyselina trichloroctová (p.a, Penta), 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina (99 %, Acros Organics), dihydrogen fosforečnan draselný (99,5 %, Sigma Aldrich), hydrogen fosforečnan sodný (p.a, Sigma Aldrich), dihydrát disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA, 99 %, Sigma Aldrich), Tris(hydroxymethyl)amino-methan (molecular biology grade, Serva) a kyseliny chlorovodíkové (35 %, Lach Ner).

Simulované plicní tekutiny byly připraveny použitím hexahydrátu chloridu hořečnatého (99 %, Sigma Aldrich), chloridu sodného (99,9 %, Fluka Analytical), chloridu draselného (99,5 %, Sigma Aldrich), hydrogen fosforečnanu sodného (p.a, Sigma Aldrich), síranu sodného (99 %, Sigma Aldrich), dihydrátu chloridu vápenatého (99,5 %, Sigma Aldrich), trihydrátu octanu sodného (99,5 %, Sigma Aldrich), hydrogen uhličitanu sodného (p.a, Sigma Aldrich), dihydrátu citrátu sodného (BioUltra, Sigma Aldrich), dihydrogen fosforečnanu draselného (99,5 %, Sigma Aldrich), hydroxidu sodného (BioUltra, Sigma Aldrich) a 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-fosfatydylocholin (99 %, Larodan AB).

Ostatními chemikáliemi použitými pro analýzu vzorků byly kyselina dusičná podvarově destilovaná z  $\text{HNO}_3$  (p.a., Analytika), peroxid vodíku (anapure, Analytika), zásobní roztok vnitřního standardu *Internal standard mix* (Agilent, Německo) obsahující Li, Ge, Bi, Sc, Y, In, Tb o koncentraci  $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (byl z něj připraven roztok o koncentraci  $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  ve 2% podvarově destilované kyselině dusičné), zásobní ladící roztok ICP-MS tuning solution Li, Mg, Y, Ce, Co a Tl (Agilent, Německo) o koncentraci vybraných prvků  $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (byl z něj připraven roztok o koncentraci  $1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ).

## **2.4 Metodika měření**

### **2.4.1 Vzorkování aerosolu**

Pro vzorkování městského aerosolu byl použit velkoobjemový vzorkovač aerosolu DHA-77 (Digitel, Švýcarsko). Tento vzorkovač byl umístěn na venkovní terase v 1. patře budovy Ústavu analytické chemie AV ČR (UIACH) na ulici Veveří v Brně. Průtok vzduchu vzorkovačem byl  $30 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ . Byl vybaven odběrovou hlavicí pro vzorkování aerosolové frakce  $\text{PM}_{10}$ . Aerosol byl zachytáván na nitrátcelulózový membránový filtr (průměr 150 mm, porozita 3  $\mu\text{m}$ , Sartorius, Německo). Vzorkování jednoho vzorku trvalo 48 hodin. Bylo odebráno 7 vzorků v zimní kampani (přelom února a března) a 7 vzorků v letní kampani (srpen) roku 2020.

### **2.4.2 Stanovení hmotnostní koncentrace $\text{PM}_{10}$ navzorkovaného městského aerosolu**

Pro zvážení nitrátcelulózových filtrů byly použity analytické mikrováhy značky M5P ( $\pm 1 \mu\text{g}$ , Sartorius, Německo). Tyto váhy jsou vybaveny speciálním nástavcem pro vážení filtrů o průměru 150 mm. Filtry byly váženy před a po vzorkování. Před vážením byly filtry 48 hodin ekvilibrovány v čisté izolované klimatizované místnosti za konstantních podmínek, kdy byla teplota  $21 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) a relativní vlhkost 50 % ( $\pm 2 \%$ ). Poté zvážení byly navzorkované filtry keramickým nožem rozděleny na čtyři čtvrtiny. Každá čtvrtina byla poté zvážena zvlášť. Před další analýzou byly jednotlivé čtvrtiny filtrů skladovány v Petriho miskách a uloženy do lednice s konstantní teplotou  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . Jedna čtvrtina byla použita pro stanovení celkové koncentrace prvků a zbylé tři čtvrtiny pro stanovení biodostupnosti a oxidačního potenciálu ve třech SLF.

### **2.4.3 Rozklad vzorků pro stanovení celkové koncentrace prvků**

Pro stanovení celkové koncentrace prvků byla využita jedna čtvrtina každého filtru. Pro minimalizaci rizika kontaminace vzorku byl rozklad proveden v čisté laboratoři. Jednotlivé části filtru byly rozloženy ve 3 ml kyseliny dusičné s využitím mikrovlnného mineralizátoru UltraWAVE (MA 149-010, Milestone). Před rozkladem reálných vzorků proběhla optimalizace parametrů rozkladného procesu pomocí čistých a testovacích filtrů. Parametry rozkladného procesu lze vidět v Tabulce 2. Rozklad probíhá při zvýšené teplotě a tlaku, což způsobí exotermní reakci. Rozložené filtry byly spolu se 7 ml DW kvantitativně převedeny do polyetylenových scintilačních lahvíček (Kartel, Itálie). Při rozkladu byly filtry umístěny ve skleněných lahvíčkách s teflonovými zátkami. Tyto lahvičky poté byly čištěny v čističce traceCLEAN v parách kyseliny dusičné. Poté byly louhovány v DW a následně usušeny.

Tabulka 2 Parametry rozkladného procesu

Krok	Čas (min)	Výkon (W)	Teplota (°C)	Tlak (bar)
Počáteční hodnoty	0	0	25	40
1	10	1500	120	110
2	15	1500	200	110
3	25	1500	250	110
4	35	0	65	110

#### 2.4.4 Stanovení celkové koncentrace prvků v PM<sub>1</sub> navzorkovaného městského aerosolu

Přístroj ICP-MS/MS Spektrometr 8800 Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Německo) byl použit pro stanovení hmotnostní koncentrace prvků navzorkovaného městského aerosolu. Tento přístroj má dva kvadrupóly (Q1 a Q2) a oktopólovou reakční celu (OCR, *octopole reaction cell*). Princip tohoto přístroje spočívá v kombinaci vysokoteplotního zdroje indukčně vázaného plazmatu (ICP, *inductively coupled plasma*) a hmotnostního spektrometru (MS, *mass spectrometer*). Atomy prvků jsou převedeny na ionty pomocí proudu argonu ze zdroje ICP. Ionty jsou poté separovány a detekovány pomocí hmotnostního spektrometru (Agilent Technologies, 2014).

Vzorek z autosampleru a roztok interního standardu jsou nasáty do zmlžovače (MicroMist nebulizer – koncentrický zmlžovač Mainhardova typu z borosilikátového skla). Nasávání je provedeno pomocí peristaltické pumpy skrze vzorkovací hadičku (1,02 mm ID), respektive hadičku pro interní standard (0,25 mm ID). V křemenné mlžné komoře zmlžovače, která je chlazená pomocí Peltierových článků, se vytváří jemný aerosol. Ten je dále odváděn pomocí nosného plynu do křemenné plazmové hlavice. Nosným plynem je argon. V křemenné hlavici dochází k desolvataci, atomizaci a ionizaci vzorku. Rozhraní mezi částí s indukčně vázaným plazmatem a hmotnostním spektrometrem je vyplněno vakuem a tvořeno dvěma platinovými kužely a extrakčními čočkami iontové optiky. Tímto rozhraním putují ionty do prvního kvadrupólu (Q1). V Q1 a v OCR jsou odstraňovány interferenty. Zde jsou také vyselektovány hledané ionty pomocí působení kolizního plynu, kterým je helium, nebo působením reakčních plynů, kterými jsou kyslík, vodík nebo amoniak. V koncovém kvadrupólovém analyzátoru jsou propouštěny ionty na základě poměru hmoty a náboje. Vyselektované a prošlé ionty jsou detekovány na elektronovém násobiči.

Pro stanovení hmotnostní koncentrace se definuje mez detekce jako součet odezvy slepého vzorku a trojnásobku odhadu směrodatné odchylky, a mez kvantifikace jako součet odezvy slepého vzorku a desetinásobku odhadu směrodatné odchylky.

V obvyklém *singlequad* módu s kolizním plynem He jsou měřeny prvky <sup>51</sup>V, <sup>53</sup>Cr, <sup>55</sup>Mn, <sup>59</sup>Co, <sup>60</sup>Ni, <sup>63</sup>Cu, <sup>66</sup>Zn a <sup>208</sup>Pb. MS/MS *mass shift* módu s kyslíkem jako reakčním plynem je využíván pro analýzu <sup>56-72</sup>Fe. Měření tak probíhá na hmotě produktu prvku

a kyslíku. Mód MS/MS *on mass* s reakčním plynem NH<sub>3</sub>/He je využíván pro analýzu <sup>111</sup>Cd, kdy s reakčním plynem reagují interferenty a měření probíhá na hmotě prvku.

Výkon generátoru přístroje byl 1550 W. Průtok nosného plynu (Ar) byl 1,07 l·min<sup>-1</sup>. Průtok kolizního plynu (He) byl 4 ml·min<sup>-1</sup>. Průtok reakčního plynu (NH<sub>3</sub>/He) byl 4 ml·min<sup>-1</sup> pro amoniak a 1 ml·min<sup>-1</sup> pro helium. Průtok O<sub>2</sub> jako reakčního plynu byl 0,29 ml·min<sup>-1</sup>. Integrační čas pro každý izotop byl 0,3 s.

Komerčně dostupný roztok, který obsahuje <sup>7</sup>Li, <sup>59</sup>Co <sup>89</sup>Y a <sup>205</sup>Tl (Agilent) byl použit pro kalibraci přístroje před každým měřením. Fe a Mn jsou makroprvky, tudíž byly kalibrovány na rozsah 0–10 µg·l<sup>-1</sup>. Ostatní prvky (V, Cr, Cd, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb) byly kalibrovány na rozsah 0–100 µg·l<sup>-1</sup>.

Do plastových vialek (5 ml, Kartel) byly nabrány všechny kalibrační roztoky, slepé vzorky (blank), roztoky vzorků a roztoky certifikovaných materiálů. Tyto vialky byly umístěny do autosampleru. Přístroj byl spuštěn a byly nastaveny metody měření. Veškerá měření probíhala podle návodu použití přístroje [164]. Výsledné hmotnostní koncentrace jednotlivých prvků z neznámých vzorků byly získány pomocí metody kalibrační křivky.

#### 2.4.5 Příprava SLF

Byly připraveny tři simulované plicní kapaliny. Těmito kapalinami byl Gamblov roztok (GS, *Gamble solution*), Simulovaná kapalina plicních sklípků (SAF, *simulated alveoli fluid*) a Curosurf. Při přípravě SLF byla použita deionizovaná voda s vodivostí 0,055 µS·cm<sup>-1</sup> (Ultra Clear UV Plus TM, Evoqua Water Technologies, Německo). Pro přípravu Curosurf byl použit injekční roztok Curosurf (Chiesi Pharmaceuticals, Itálie), který byl ředěn pomocí DW v poměru 1:799. Chemické složení Gamblova roztoku a SAF je v Tabulce 3.

Tabulka 3 Chemické složení Gamblova roztoku a SAF

Gamblův roztok (GS)	1000 ml DW
	0,2033 g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$
	6,0193 g NaCl
	0,2982 g KCl
	0,142 g $Na_2HPO_4$
	0,071 g $Na_2SO_4$
	0,3676 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
	0,9526 g $CH_3COONa \cdot 3H_2O$
	2,6043 g $NaHCO_3$
	0,097 g dihydrátu citrátu sodného
Simulovaná kapalina plicních sklípků (SAF)	1000 ml DW
	0,2205 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
	10 ml Clark-Lubs pufru při pH = 7,4 ( $6,808 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ $KH_2PO_4$ + $1,574 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH)
	0,1 g 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-fosfatidylcholin

#### 2.4.6 Extrakce vzorků do SLF pro stanovení biodostupnosti a oxidativního potenciálu

Každá ze zbývajících třech čtvrtin filtru byla extrahována v jiné simulované plicní kapalině. Jako SLF byly použity Gamblův roztok, simulovaná kapalina plicních sklípků a Curosurf. Každá čtvrtina filtru byla extrahována ve skleněné lahvičce, ve které bylo vždy 30 ml dané SLF. Tyto lahvičky byly umístěny na třepače v termostatickém boxu při konstantní teplotě 37 °C. Extrakce vzorků do SLF trvala 24 hodin což je podle Caboche a kol. (2011) dostatečný čas pro maximální extrakci částic do SLF [165]. Po extrakci byly vzorky pomocí injekčního filtru (LUT Syringe Filters PES, 25 mm, 0,45  $\mu\text{m}$ , Labstore) přefiltrovány do polyetylenových scintilačních lahviček (Kartel, Itálie). Každý z takto získaných extraktů byl následně rozdělen na část pro stanovení biodostupnosti a část pro stanovení oxidativního potenciálu. Pro stanovení oxidativního potenciálu bylo použito 13,5 ml extraktu. Pro stanovení biodostupnosti bylo do zbylého množství roztoku přidáno 200  $\mu\text{l}$   $HNO_3$  pro stabilizaci prvků. Před analýzou byly extrahované vzorky uloženy v lednici při konstantní teplotě 4 °C.

Objem 30 ml příslušné SLF, který byl použit pro extrakci filtrů, byl zvolen jako kompromis mezi použitím dostatečného objemu pro analýzu vzorků, zajištěním kontaktu mezi filtrem a SLF a získáním koncentrovaného vzorku [166]. Takto zvolený objem by neměl ovlivnit biodostupnost prvků, protože je dodržen poměr pevné a kapalné fáze mezi 1:500 a 1:50 000  $\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , jak ve svém výzkumu doporučuje Caboche a kol. (2011) [165].

### 2.4.7 Stanovení biodostupnosti kovů navzorkovaného městského aerosolu

Pro stanovení biodostupnosti kovů proběhlo měření koncentrace látek rozpuštěných v dané simulované plicní kapalině a měření celkové koncentrace látek v navzorkovaném aerosolu pomocí ICP-MS/MS 8800 (Agilent Technologies, Německo). Hodnoty těchto dvou koncentrací byly poděleny, čímž je získána procentuální biodostupnost látek městského aerosolu v dané SLF. Tento vztah je uveden v Rovnici (3).

$$\text{biodostupnost} = \frac{c_{SLF}}{c_t} \times 100 [\%], \quad (3)$$

kde  $c_{SLF}$  [ $ng \cdot m^{-3}$ ] je koncentrace prvků ze vzorku rozpuštěných v SLF a  $c_t$  [ $ng \cdot m^{-3}$ ] je celková koncentrace prvků v navzorkovaném aerosolu.

Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem byl pro stanovení koncentrace kovů ze vzorku extrahovaného do SLF nastaven a použit obdobně jako při měření celkových koncentrací, jak je popsáno v kapitole 2.4.4. Zde bylo využito systému HMI (*High matrix induction*), který zajišťoval kontinuální ředění vzorků se SLF. Tento systém ředí proud aerosolizovaného vzorku přesně řízeným a kalibrovaným množstvím plynného argonu. Zde bylo využito až osminásobného ředění. Průtok nosného plynu je rovněž řízen automaticky tak, aby se zachoval stále stejný objem obsaženého plynu. To znamená, že průtok nosného plynu je snižován s každým zvýšením průtoku ředícího plynu. Výsledkem interakce ředícího plynu je snížení hustoty a zmenšení kapek aerosolizovaného vzorku. Díky tomu dojde ke zvýšení teploty plazmatu, efektivnějšímu rozkladu matrice, snížení obsahu oxidů a snížení počtu nežádoucích interferencí. To vše zvyšuje robustnost plazmatu, což umožňuje méně častou údržbu [164].

### 2.4.8 Stanovení oxidativního potenciálu (DTT)

Oxidativní potenciál byl stanoven metodou používající DTT (dithiothreitol) pro standardní roztoky kovů i pro reálné vzorky navzorkovaného aerosolu.

Při této metodě byl použit 1 mM roztok dithiothreitolu v 0,1 M fosfátovém pufru (pH 7,4). Pro stanovení oxidativního potenciálu bylo do 0,9 ml vzorku přidáno 0,1 ml DTT. Vzniklý roztok byl inkubován při teplotě 37 °C odpovídající teplotě lidského těla a umístěn na třepačku s neprůsvitným krytem, aby nedošlo k nežádoucím reakcím fotocitlivého DTT. Oxidace DTT byla zastavena v předem určených časech (5, 10, 15, 25 a 35 minut) přidáním 1 ml roztoku 10% kyseliny trichloroctové. Po zastavení oxidace DTT bylo odebráno 0,5 ml roztoku, který byl následně smíchán s 25  $\mu$ l 10 mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoové kyseliny (DTNB) a 1 ml 0,4 M Tris-HCl (pH 8,9). Úbytek DTT byl měřen pomocí UV-VIS spektrometru (DU 250, Beckman) jako absorbance při vlnové délce 412 nm. Ze získaných úbytků DTT po jednotlivých minutách byla získána rychlost úbytku  $\mu$ M $\cdot$ min<sup>-1</sup>, která je přímo úměrná schopnosti redox-aktivních složek částic ve vzorku generovat ROS. Tato schopnost je definována jako OP.

#### 2.4.8.1 Stanovení OP standardních roztoků kovů

Stanovení oxidativního potenciálu standardních roztoků kovů bylo provedeno na 10

vybraných prvcích (měď (Cu), mangan (Mn), nikl (Ni), chrom (Cr), zinek (Zn), kobalt (Co), železo (Fe), olovo (Pb), vanad (V) a kadmium (Cd)). V den experimentu byly připraveny standardní roztoky těchto kovů o molárních koncentracích 0,03; 0,1; 0,3; 1 a 3  $\mu\text{M}$  v příslušných SLF (Gamblův roztok, SAF, Curosurf). Pro přípravu standardních roztoků byly použity chemikálie popsané v kapitole 2.3. Pro železo byly zkoumány jak železnaté ( $\text{Fe}^{2+}$ ), tak železité ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ionty. Kromě výše uvedených molárních koncentrací proběhlo měření i na slepém vzorku (blank), který obsahoval pouze danou SLF a DTT bez přidání redox-aktivních kovů. Měření bylo pro každý prvek opakováno 4krát (2 měření v každém ze 2 realizací namíchání standardního roztoku).

Oxidativní potenciál dané koncentrace daného kovu odpovídá rychlosti úbytku DTT, která byla stanovena z lineární regrese naměřené absorbance, jejíž postup změřením je popsán výše (kapitola 2.4.8). Lineární regrese byla aplikována na hodnoty absorbancí daného kovu o dané molární koncentraci s rozdílnými časy zastavení oxidace DTT.

Výslednými spotřebami DTT při různých koncentracích standardních roztoků lze proložit křivkou mocninné funkce (viz. Rovnice (4)).

$$y = ax^b, \quad (4)$$

kde zde  $y [\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}]$  je rychlost spotřeby DTT ( $\Delta\text{DTT}$ ) při standardním roztoku o koncentraci  $x [\mu\text{M}]$ ,  $a$  a  $b$  jsou koeficienty mocninné funkce.

#### 2.4.8.2 Stanovení OP reálných vzorků navzorkovaného aerosolu

Pro stanovení oxidativního potenciálu navzorkovaného aerosolu bylo z každého extrahovaného vzorku do SLF použito 13,5 ml. Měření těchto vzorků metodou DTT popsanou výše (kapitola 2.4.8.2) bylo provedeno třikrát pro každou SLF. Zde také byly využity slepé vzorky, které obsahovaly danou SLF, do které byl extrahován slepý filtr (navzorkovaného aerosolu).

Směrnice lineární regrese hodnot absorbancí vzorku byla korigována odečtením směrnice lineární regrese hodnot pro slepý vzorek pro získání rychlosti úbytku DTT.

Výsledný oxidativní potenciál byl vypočítán dvěma způsoby. Jedním způsobem byla normalizace rychlosti úbytku DTT objemem vzorkovaného vzduchu, který prošel filtrem. Druhým způsobem byla normalizace rychlosti úbytku DTT hmotností částic. Vzorce těchto výpočtů jsou v Rovnicích (5) a (6).

$$OP_V^{DTT} = \frac{\Delta\text{DTT}}{V}, \quad (5)$$

$$OP_m^{DTT} = \frac{\Delta\text{DTT}}{m}, \quad (6)$$

kde  $OP_V^{DTT} [\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}]$  je oxidativní potenciál normalizovaný na objem vzduchu,  $OP_m^{DTT} [\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}]$  je oxidativní potenciál normalizovaný na hmotnost částic,  $\Delta\text{DTT} [\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}]$  je rychlost úbytku DTT,  $V [\text{m}^3]$  je objem prosátého vzduchu filtrem při vzorkování aerosolu a  $m [\text{g}]$  je hmotnost částic  $\text{PM}_{10}$  zachycených na filtru během vzorkování aerosolu.

## 2.5 Analýza naměřených výsledků

Všechny získané soubory dat byly zpracovány a statisticky vyhodnoceny. Pro jednodušší výpočty byl využit Microsoft Excel 2019 [167], pro složitější výpočty a statistickou analýzu byl využit internetový OpenSource program Google Colab v programovacím jazyku Python s využitím knihoven SciPy a Pinguin [168]. V textu práce a v Příloze A jsou udávány číselné hodnoty jednotlivých naměřených a vypočítaných veličin ve formátu *průměr ± směrodatná odchylka*. Dále jsou data reprezentována pomocí krabicových grafů, kdy barevný obdélník reprezentuje interkvantilové rozmezí (IQR), což znamená, že horní hranice odpovídá 3. kvartilu (Q3, 75. percentil) a dolní hranice odpovídá 1. kvartilu (Q1, 25. percentil). Linie uvnitř krabicového grafu znázorňuje medián naměřených hodnot. Linky vycházející z barevného obdélníku reprezentují rozložení dat mimo Q1 a Q3, kdy tyto linky končí na nejvzdálenější hodnotě od Q3 v rozmezí Q3 a  $1,5 \cdot \text{IQR}$ , a na nejvzdálenější hodnotě od Q1 v rozmezí Q1 a  $1,5 \cdot \text{IQR}$ . Samostatnými body pak mohou být znázorněny odlehle hodnoty. Při nedostatečném rozptylu hodnot je pro grafickou reprezentaci dat použit sloupcový graf, u něhož výška sloupce reprezentuje medián naměřených hodnot a svislá linka okolo vrcholu sloupce reprezentuje 95% konfidenční interval.

V této práci jsou udávány p-hodnoty výsledků statistických testů. Tyto p-hodnoty jsou porovnány s hladinou významnosti. Pokud p-hodnota statistického testu byla menší než hladina významnosti, došlo k zamítnutí nulové hypotézy daného statistického testu. V této práci byla použita hladina významnosti 0,05. Výjimkou byly pouze vícenásobné testy, u kterých došlo k Bonferroniho korekci hladiny významnosti dělením původní hladiny významnosti počtem provedených statistických testů, což je také zmíněna přímo u daného testu. V příloze jsou v tabulkách barevně rozlišeny p-hodnoty, které zamítají nulovou hypotézu (zeleně) a které nezamítají nulovou hypotézu (červeně).

Pro zjištění, zda soubor dat pochází z normálního rozdělení, byl vždy použit Shapiro-Wilks test. Nulová hypotéza ( $H_0$ ) tohoto testu zněla: Vybraná data pochází z normálně rozděleného souboru dat. Alternativní hypotéza ( $H_1$ ) zněla: Vybraná data nepochází z normálně rozděleného souboru dat. Pokud data měla normální rozdělení, byly dále používány parametrické statistické testy. V opačném případě byly použity neparametrické varianty statistických testů.

Vztah mezi dvěma veličinami byl porovnáván pomocí parametrické Pearson korelace, případně pomocí neparametrické Spearman korelace. Kromě korelačních koeficientů byla vyhodnocena také statistická významnost těchto korelací pomocí p-hodnot. ( $H_0$ : Mezi proměnnými neexistuje statisticky významný vztah.  $H_1$ : Mezi proměnnými existuje statisticky významný vztah.)

Pro porovnání průměrů nepárových souborů dat s normálním rozdělením byl použit nezávislý t-test. ( $H_0$ : Mezi průměry souborů dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi průměry souborů dat je statisticky významný rozdíl)

Neparametrickou alternativou k nepárovému t-testu byl Mann-Whitney U test. ( $H_0$ : Mezi mediány souborů dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi mediány souborů dat je statisticky významný rozdíl)

Levene test byl použit pro zjištění homogenity rozptylů více souborů dat, což je jednou z podmínek vícenásobného testu ANOVA. ( $H_0$ : Soubory dat nemají statisticky odlišitelný rozptyl.  $H_1$ : Soubory dat mají statisticky odlišitelný rozptyl.)

Jako neparametrická alternativa testu ANOVA byl pro nezávislá data použit Kruskal-Wallis test. ( $H_0$ : Mezi mediány jednotlivých souborů dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi mediány některých souborů dat je statisticky významný rozdíl.)

Pokud Kruskal-Wallis test odhalil nějaký rozdíl mezi soubory dat, pak byl jako post-hoc test použit Dunn test, jehož cílem je odhalit, které dvojice souborů dat se mezi sebou liší. Při tomto testu byly pomocí Bonferroni korekce upraveny p-hodnoty tak, aby je bylo možné rovnou porovnávat s hladinou významnosti (0,05). ( $H_0$ : Mezi mediány souborů dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi mediány souborů dat je statisticky významný rozdíl.)

Vícenásobné porovnání párových souborů dat, které neměly normální rozdělení, bylo provedeno pomocí Welch ANOVA testu. Jeho výsledná p-hodnota musela být porovnána s korigovanou hladinou významnosti. ( $H_0$ : Mezi soubory dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi některými soubory dat je statisticky významný rozdíl.)

Párový Games-Howell test byl použit jako post-hoc test, pokud Welch ANOVA test odhalil rozdíly mezi některými soubory dat. Tento test má p-hodnotu již korigovanou, takže ji lze porovnávat s původní hladinou významnosti (0,05). ( $H_0$ : Mezi soubory dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi soubory dat je statisticky významný rozdíl.)

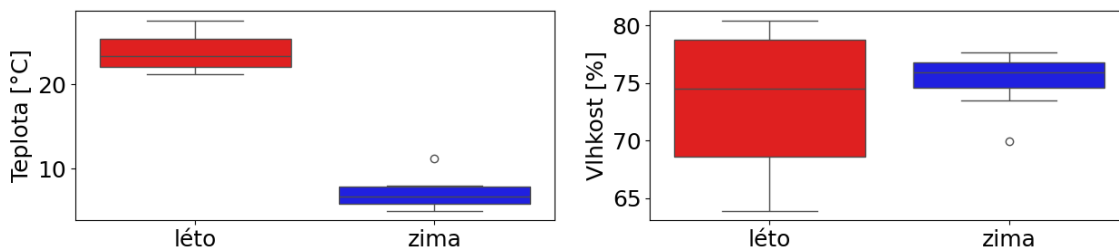
Friedman test byl použit pro porovnání více párových souborů dat, které neměly normální rozložení. ( $H_0$ : Mezi mediány souborů dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi mediány souborů dat je statisticky významný rozdíl.)

Pokud Friedman test odhalil rozdíly mezi některými soubory dat, byl následně použit Nemenyi test jako post-hoc test pro odhalení, které konkrétní soubory dat se od sebe liší. ( $H_0$ : Mezi soubory dat není statisticky významný rozdíl.  $H_1$ : Mezi soubory dat je statisticky významný rozdíl.)

## 3. VÝSLEDKY A DISKUSE

### 3.1 Teplota a vlhkost ovzduší

Data o teplotě a vlhkosti ovzduší byla použita pro lepší porovnání hmotnostní koncentrace, inhalační biodostupnosti a oxidativního potenciálu reálných vzorků s jinými studii. Data o teplotě a vlhkosti byla naměřena na meteostanici umístěné na Hvězdárně a planetáriu Brno, která je nedaleko místa odběru vzorků aerosolu, a pro tuto práci byla poskytnuta na žádost (mailová korespondence, dne 4. 3. 2024) [169]. Data o průměrné teplotě a vlhkosti v průběhu jednotlivých 48hodinových vzorkováních v létě a zimě jsou znázorněny v Grafu 1. Během letní kampaně byla teplota během akvizice jednotlivých vzorků  $23,83 \pm 2,19$  °C a vlhkost  $73,36 \pm 6,18$  %. Během zimní kampaně byla teplota  $7,18 \pm 1,93$  °C a vlhkost  $75,18 \pm 2,47$  %. Průběh teploty a vlhkosti během vzorkování je v Příloze A v Grafu A1 a Grafu A2.



Graf 1 Průměrná teplota a vlhkost během vzorkování aerosolu, krabicový graf

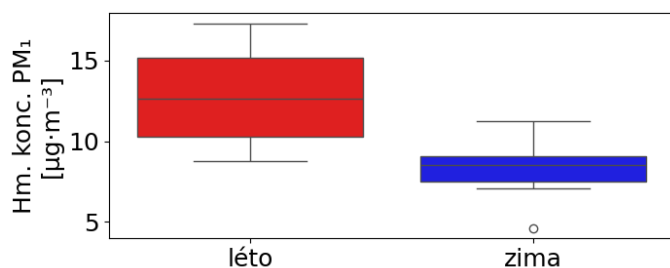
Data o teplotě a vlhkosti měla normální rozložení (Shapiro-Wilks test, p-hodnoty: teplota: léto: 0,700; zima: 0,264; vlhkost: léto: 0,268, zima: 0,130). Zahrnou-li se data z obou kampaní dohromady, test zamítl normální rozložení u teploty (p-hodnoty viz. Tabulka A139).

Mezi teplotou a vlhkostí v létě byla zjištěna statisticky významná záporná korelace (Pearsonův korelační koeficient: -0,877; p-hodnota: 0,010). V zimě (-0,098; p-hodnota: 0,834) ani při zahrnutí obou kampaní dohromady (Spearman, koeficient a p-hodnota viz. Tabulka A143) nebyla korelace významná.

Teplota v létě byla vyšší než v zimě, když byl zjištěn statisticky významný rozdíl (nezávislý t-test, p-hodnota: 0,000). Mezi vlhkostí v létě a v zimě nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl (nezávislý t-test, p-hodnota: 0,514).

### 3.2 Hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub>

Hmotnostní koncentrace navzorkované frakce PM<sub>1</sub> v letní a zimní kampani je v Grafu 2. V létě měla hodnotu  $12,79 \pm 3,1$   $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  a v zimě  $8,22 \pm 1,9$   $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ . Její průběh během vzorkování při letní a zimní kampani je v Grafu A3.



Graf 2 Hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub>, krabicový graf

Hmotnostní koncentrace velikostní frakce PM<sub>1</sub> měla normální rozložení (Shapiro-Wilks test, p-hodnoty: léto: 0,447; zima: 0,881). Normální rozložení bylo zjištěno i při zahrnutí dat z obou kampaní dohromady (p-hodnoty viz Tabulka A139).

V zimě byla odhalena statisticky významná negativní korelace hmotnostní koncentrace s teplotou, kdežto v létě se jednalo o pozitivní korelaci, ale statisticky nevýznamnou (Pearson, léto: 0,719; zima: -0,769; p-hodnoty: léto: 0,069; zima: 0,043). Trendu, kdy v zimě při nižších teplotách hmotnostní koncentrace rostla, si lze všimnout při porovnání průběhů průměrných hodnot hmotnostní koncentrace (Graf A3) a teploty (Graf A1). Tento trend odpovídá tomu, že při nižších teplotách jsou domácnosti více vytápěny, čímž se dostává více znečišťujících částic do ovzduší. Yubero a kol. (2015) toto rovněž přisuzují zhoršeným rozptylovým podmínkám při nižší teplotě vzduchu [169]. Vztah hmotnostní koncentrace s teplotou v létě se přisuzuje zvýšené fotochemické aktivitě, která podporuje tvorbu prekurzorů aerosolu. Při zahrnutí dat z obou kampaní dohromady převážila kladná korelace z letní kampaně, která byla statisticky významnou (Spearman, koeficienty a p-hodnoty viz. Tabulka A143).

Korelace s vlhkostí nebyla statisticky významná ani v letní kampani (Pearson: -0,638, p-hodnota: 0,123), ani v zimní kampani (Pearson: -0,342; p-hodnota: 0,452), ani při zahrnutí dat z obou kampaní dohromady (Spearman, koeficienty a p-hodnoty viz. Tabulka A143). Žádný pozorovaný efekt změny vlhkosti na změně koncentrace může být způsoben poměrně malým kolísáním vlhkosti během vzorkování. Podle Zhang a kol. (2017) fluktuace vlhkosti vzduchu může mít vliv na koncentraci částic v aerosolu [170]. Ten však ve své studii měřil hodinové koncentrace, kde může být velký vliv změny vlhkosti pozorovaný mezi denními a nočními hodinami, kdežto v této studii byly měřeny 48hodinové koncentrace, kde došlo k zahrnutí denních i nočních koncentrací do jednoho vzorku.

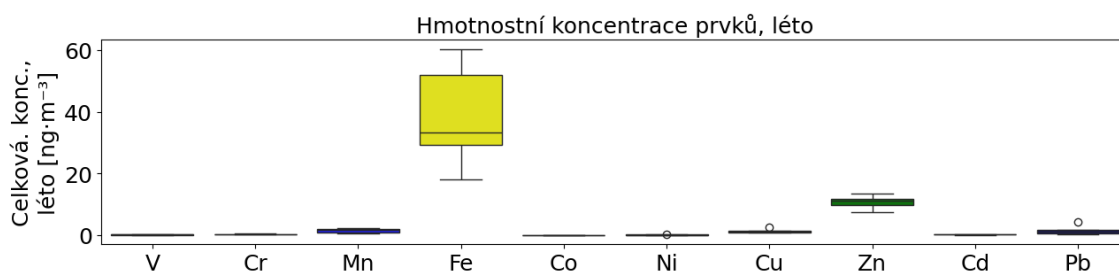
Hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub> v létě měla větší hodnotu než v zimě, kdy byl nalezen statisticky významný rozdíl (nezávislý t-test, p-hodnota: 0,001). Obvyklejší však bývá, že vyšší hodnoty hmotnostní koncentrace bývají během zimního období. To bylo zjištěno i v Brně v roce 2018 [171], a v jiných Evropských městech, např. v polské Varšavě (Majewski a kol., 2018) [172], v italském Miláně při analýze městského aerosolu v roce 2002 [173], nebo v rakouských městech v letech 1999 a 2000 [174]. Vyšší hmotnostní koncentrace částic ve vzduchu v létě oproti zimě byly sledovány v roce 2012 a 2013

v ovzduší nad Evropou, kdy byl podle Alastuey a kol. (2016) důvodem zvýšený výskyt saharského písku, který však přispíval spíše k velikostní frakci  $PM_{10}$  [175]. Wagener a kol. (2012) zjistili, že hmotnostní koncentrace  $PM_1$  byla v částech Berlíně s malým obsahem vegetace vyšší v letní měsících [176]. Důvodem menších hodnot hmotnostní koncentrace  $PM_1$  v zimní kampani v této práci je pravděpodobně ten, že zimní kampaň byla prováděna ke konci zimy (konec února a začátek března), kdy teploty nebyly tak nízké jako bývá v zimě obvyklé, tudíž se tolik netopilo v budovách. Naopak vyšší hodnoty hmotnostní koncentrace v letních měsících mohlo způsobit to, že vzorkování proběhlo uprostřed města s hustou dopravou.

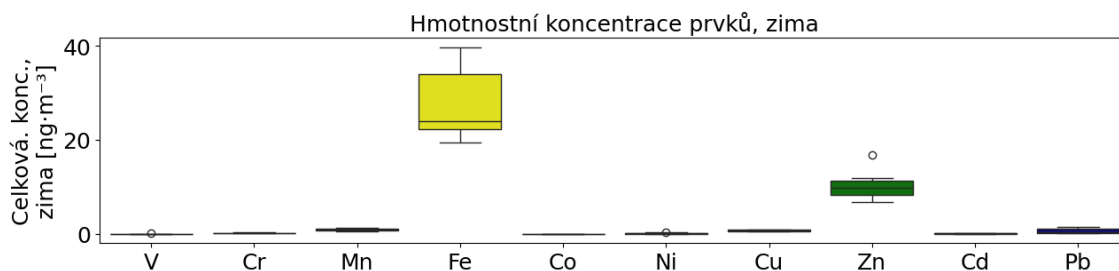
### 3.3 Celkové koncentrace jednotlivých kovů

Celkové koncentrace jednotlivých kovů navzorkovaných ve frakci  $PM_1$  v letní kampani jsou uvedeny v Grafu 3, pro zimní kampaň je v Grafu 4. Detailnější znázornění je poté v Grafu A11, respektive v Grafu A12. Průběh celkové koncentrace jednotlivých kovů je v Grafu A4. Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky jsou v Tabulce A1. Imisní limit nebyl překročen ani pro jeden ze studovaných pravidelně monitorovaných prvků v ČR (Ni, Cd, Pb).

Z letních vzorků nevykazovaly normální rozdělení pouze celkové koncentrace Cu a Pb v létě, V a Ni v zimě. Výsledné p-hodnoty Shapiro-Wilks testu ověření normality jsou v Tabulce A2. Tabulka A140 (p-hodnoty) ukazuje, že V, Ni, Cu ani Pb nemělo normální rozložení při zahrnutí dat obou kampaní dohromady. Vzhledem k tomu, že normální rozdělení celkové koncentrace některé kovy nevykazovaly, byly pro další analýzu využity neparametrické statistické metody.



Graf 3 Celkové koncentrace kovů, léto, krabicový graf



Graf 4 Celkové koncentrace kovů, zima, krabicový graf

V Tabulce A3 jsou Pearson korelační koeficienty celkových koncentrací kovů s teplotou, vlhkostí a hmotnostní koncentrací  $PM_{10}$ . P-hodnoty vyjadřující významnost korelace jsou v Tabulce A4. Během letní kampaně byla zjištěna statisticky významná záporná korelace kovů V, Mn, Fe a Zn s vlhkostí. Během zimní kampaně byla zjištěna statisticky významná korelace Cd s hmotnostní koncentrací frakce  $PM_{10}$  a kovů Fe, Co, Cu a Pb s teplotou, přičemž u Pb se jednalo o zápornou korelaci. Při zahrnutí dat z obou kampaní dohromady byla hmotnostní koncentrace významně kladně korelována pro V, Mn, Fe, Co a Cu s teplotou; negativně s vlhkostí pro Cr a Fe; a hmotnostní koncentrací  $PM_{10}$  pro V, Co, Cd, a Pb. Spearman korelační koeficienty a p-hodnoty pro obě kampaně dohromady jsou v Tabulce A144 a A145.

Shah. a kol. (2008) studovali vztahy koncentrací jednotlivých kovů v atmosférickém aerosolu [177]. Mimo jiné zjistili, že koncentrace Fe a Mn byla kladně korelována s teplotou a záporně s vlhkostí, což převážně odpovídá výsledkům této práce pro zahrnutí obou kampaní. Naopak záporná korelace Pb s teplotou a kladná s vlhkostí byla u Shah. a kol. (2008) sledována v zimní kampani, což je v souladu s výsledky této práce.

V Tabulce A5 a A6, respektive v Tabulce A7 a A8, jsou Spearman korelační koeficienty a p-hodnoty významnosti těchto korelací mezi celkovými koncentracemi jednotlivých kovů v létě, resp. v zimě. Statisticky významné kladné korelace celkových koncentrací kovů byly v létě korelace Co s Cr, Mn, Fe, Ni; Fe s Mn; Ni s Cr, Cu a Cr s Cu. V zimě byla statisticky významná kladná korelace o korelace Fe s Cu; záporná korelace Pb s Fe, Cu. Při zahrnutí dat z obou kampaní dohromady (koeficienty a p-hodnoty Spearman korelace viz. Tabulka A146 a A147) byly významně korelovány celkové koncentrace Co s V, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn a Cd; Mn s Cr, Fe, Cu, Zn a Cd; V s Cu, Cd, Pb; Cr s Fe a Ni; Fe s Cu, Zn; Cu s Zn; Cd s Pb.

Shah a kol. (2008) pozorovali silné kladné korelace mezi koncentrací Fe a Mn; Pb a Cd; a k tomu další významné korelace mezi Zn a Cu, Pb, Cd; Ni a Co, Cr [177]. Kromě Zn s Pb, Cd; a Ni s Co se tyto korelace shodují s tím, co bylo nalezeno v této práci při zahrnutí obou kampaní dohromady. Kladná korelace mezi celkovou koncentrací Ni s Co však v této práci byla nalezena během letní kampaně. V Brně byla naměřena významná korelace koncentrací Cu s Zn, Pb; Zn s Cd; Fe s Mn [157].

Kladné vztahy mezi koncentracemi jednotlivých kovů bývají často způsobeny tím, že korelované kovy mají společný zdroj v ovzduší, ať už se jedná o zemskou kůru, emise výfukových plynů a průmyslových procesů, spalování nebo emise automobilů [177].

V létě ani v zimě nevykazovaly hodnoty celkových koncentrací jednotlivých kovů homogenitu rozptylů (Levene test, p-hodnoty: léto: 0,000; zima: 0,000), tudíž pro jejich vzájemné porovnání byl použit Friedman test. Ten odhalil statisticky významný rozdíl mezi celkovými koncentracemi jednotlivých kovů v obou kampaních (p-hodnoty: léto:  $1,452 \cdot 10^{-9}$ ; zima:  $2,321 \cdot 10^{-9}$ ). Jako post-hoc test byl použit Nemenyi test. Výsledné p-hodnoty tohoto testu jsou pro letní kampaň v Tabulce A9, pro zimní kampaň v Tabulce A10. Největší celková koncentrace byla v obou kampaních koncentrace Fe, u které byl

nalezen statisticky významný rozdíl oproti celkové koncentraci V, Co, Ni a Cd v obou kampaních a v létě ještě Cr. Druhým nejvíce zastoupeným kovem byl v obou kampaních Zn. Ten měl statisticky významný rozdíl oproti celkové koncentraci V, Co, Ni a Cd. Naopak nejméně zastoupeným kovem bylo Co, u kterého byl zjištěn statisticky významný rozdíl kromě Fe a Zn i oproti Mn, Cu, a Pb. Kromě toho byl navíc v létě nalezen statisticky významný rozdíl v létě mezi Mn a Ni, v zimě mezi Mn a V.

Při zahrnutí obou kampaní dohromady, rovněž Levene test zamítnul homogenitu rozptylů celkových koncentrací jednotlivých kovů (p-hodnota Tabulka viz. A182). Friedman test (p-hodnota:  $4,899 \cdot 10^{-21}$ ) odhalil statistické rozdíly mezi celkovými koncentracemi jednotlivých kovů. Nemenyi test (p-hodnoty viz. Tabulka A185) odhalil, že statisticky významné rozdíly jsou konkrétně mezi V a Mn, Fe, Cu, Zn a Pb; Co a Cr, Mn, Fe, Cu, Zn a Pb; Cr s Fe a Zn; Mn s Ni a Cd; Fe s Cr, Ni a Cd; Ni s Cu, Zn a Pb; a Zn s Cd. Celkové koncentrace jednotlivých kovů lze na základě statistických testů rozřadit do tří skupin, kdy jedna skupina byla významně vyšší oproti některým dalším kovům, u druhé skupiny nebyl nalezen žádný významný rozdíl, a třetí skupina byla významně nižší než některé jiné kovy. Toto seřazení je uvedeno v Tabulce 4. Celkově je toto rozřazení velmi podobné v obou kampaních.

Tabulka 4 Rozřazení kovů dle celkové koncentrace

Kampaň	Léto	Zima	Obě
Nejvyšší koncentrace	Fe, Zn	Fe, Zn	Fe, Zn
Střední koncentrace	Mn, Pb, Cu	Mn, Cu, Pb, Cr	Mn, Pb, Cu, Cr
Nejnižší koncentrace	Cr, Cd, V, Ni, Co	V, Ni, Cd, Co	Ni, Cd, V, Co

Největší naměřená koncentrace Fe a Zn odpovídá výzkumu Shah a kol. (2008), kde tyto dva kovy patřily do dominantní skupiny kovů [177]. V Brně byla v roce 2014 naměřena nejvyšší koncentrace rovněž u kovů Fe a Zn při vzorkování velikostní frakce PM<sub>1</sub> [157]. V německém Frankfurtu byla mezi lety 2009 a 2010 naměřena nejvyšší koncentrace kovů Cu, Pb, Cr a Mn [178].

Jak lze vidět v Tabulce A11 (Mann-Whitney U test, p-hodnoty), statisticky významné rozdíly mezi letní a zimní kampaní byly u celkových koncentrací V, Co a Cu, kdy u všech těchto tří kovů byly hodnoty celkové koncentrace vyšší v během letní kampaně. Celková koncentrace Co měla v letní kampani průměrnou hodnotu  $11,4 \cdot 10^{-3} \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$ , zatímco v zimní kampani  $6,7 \cdot 10^{-3} \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$ .

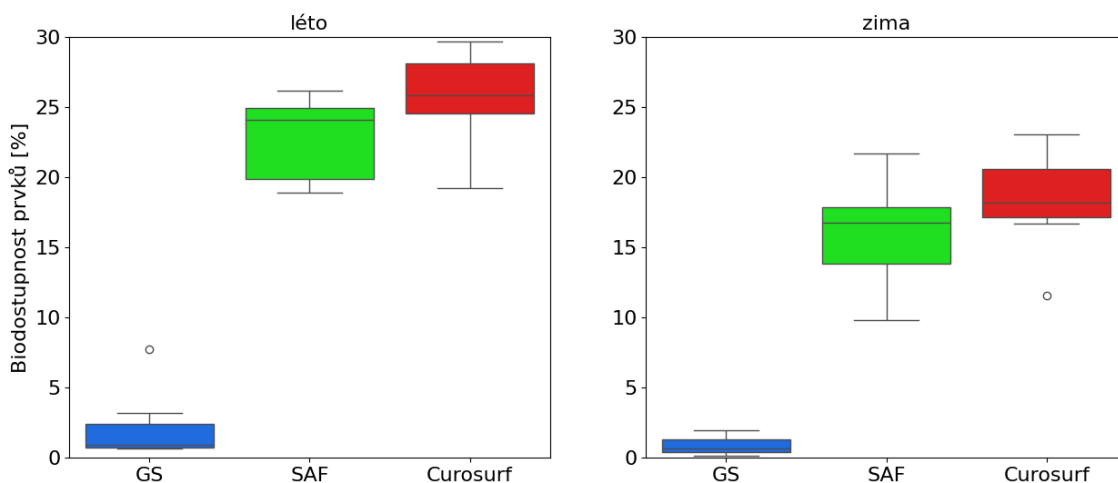
Vyšší koncentrace některých kovů v létě byla nalezena ve studii Shah a kol. (2008) u Ni a Cr [177]. Naopak zvýšenou koncentraci během zimy zaznamenali u Co, Cu, Cd a Pb. V Brně v roce 2018 byla naměřena vyšší koncentrace Cd, Cu, Ni, Pb a Zn během zimy, zatímco koncentrace Fe a Mg byla vyšší během léta [171]. To, že koncentrace některých kovů je variabilní v průběhu ročních období tato studie přisuzovala odlišným zdrojům těchto kovů, kdy v létě měly větší vliv přírodní zdroje, zatímco v zimě antropogenní. V zimě se nárůst koncentrace Cu, Zn, Cd nebo Pb dává do souvislosti

s topnou sezónou, kdy jsou tyto kovy při spalování fosilních paliv uvolňovány více do ovzduší [179]. Co se týče původu PM<sub>1</sub> částic ve vzduchu, podle Costabile a kol. (2019), PM<sub>1</sub> tvoří hlavně částice pocházející z automobilové dopravy, spalování biomasy a sekundární aerosol [180].

### 3.4 Biodostupnost kovů

#### 3.4.1 Celková biodostupnost kovů

Biodostupnost byla vyhodnocena metodou *in vitro* do 3 simulovaných plicních kapalin (GS, SAF, Curosurf). U některých měření došlo ke kontaminaci vzorku, z toho důvodu nebylo možné vyhodnotit biodostupnost všech kovů ve všech SLF. Celková biodostupnost analyzovaných kovů navzorkované frakce PM<sub>1</sub> v letní a zimní kampani pro jednotlivé kapaliny je v Grafu 5. Průměrné, minimální a maximální hodnoty jsou v Tabulce A12. Průběh biodostupnosti kovů je zobrazen v Grafu A5.



Graf 5 Biodostupnost kovů, krabicový graf

Celková biodostupnost kovů vykazovala normální rozložení u všech SLF kromě GS v letní kampani. Výsledné p-hodnoty Shapiro-Wilks testu jsou v Tabulce A13. Rovněž při zahrnutí dat z obou kampaní nebylo normální rozložení pouze u GS (p-hodnoty viz. Tabulka A142).

Pro jednotlivé kampaně byly provedeny korelace hodnot celkové biodostupnosti kovů v jednotlivých SLF s teplotou (Spearman korelační koeficienty a p-hodnoty těchto korelací viz. Tabulka A14), vlhkostí (Tabulka A15), hmotnostní koncentrací PM<sub>1</sub> (Tabulka A16) a celkovou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka A17-A22). Pro obě kampaně dohromady byly rovněž provedeny korelace s teplotou, vlhkostí, hmotnostní koncentrací (Tabulka A148) a celkovou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka A149 a A150). Dále byly provedeny korelace biodostupnosti kovů mezi jednotlivými kapalinami, a to jak pro obě kampaně zvlášť (Tabulka A23), tak dohromady (Tabulka A179).

Byla nalezena statisticky významná záporná korelace s teplotou v obou kampaních v Curosurf, zatímco v zimě pouze v GS. Celková biodostupnost kovů pouze v Curosurf byla statisticky významně korelována s hmotnostní koncentrací  $PM_{10}$ , přičemž v létě se jednalo o zápornou a v zimě o kladnou korelaci. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byla biodostupnost kovů významně kladně korelována s teplotou a hmotnostní koncentrací  $PM_{10}$ , a to pouze v SAF. S vlhkostí nebyla nalezena žádná významná korelace.

Celková biodostupnost kovů v GS byla v zimě významně korelována s celkovou koncentrací Fe, Cu a Pb, přičemž u Fe a Cu šlo o zápornou korelaci. Při extrakci do Curosurf byla nalezena významná záporná korelace v létě s celkovou koncentrací Mn a Fe. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byla biodostupnost kovů v GS významně kladně korelována s celkovou koncentrací Pb. U Curosurf se jednalo o korelaci s celkovou koncentrací V. Biodostupnost kovů v SAF nevykazovala žádnou významnou korelaci s celkovou koncentrací některého z kovů.

Mezi jednotlivými SLF byla významná korelace zaznamenána pouze při zahrnutí obou kampaní dohromady, kdy Curosurf byl významně kladně korelován s GS i SAF, ale mezi GS a SAF korelace významná nebyla.

Mezi letní a zimní kampaní byl nalezen statisticky významný rozdíl u biodostupnosti kovů v SAF a v Curosurf, nikoliv ale v GS (Mann-Whitney U test, p-hodnoty viz. Tabulka A24). V letní kampani byla biodostupnost v SAF a Curosurf významně vyšší než v zimní kampani. Rozdílnost mezi kampaněmi u SAF bude souviset s korelací této biodostupnosti s teplotou a hmotnostní koncentrací pro obě kampaně dohromady. Biodostupnost v GS byla v obou kampaních porovnatelná.

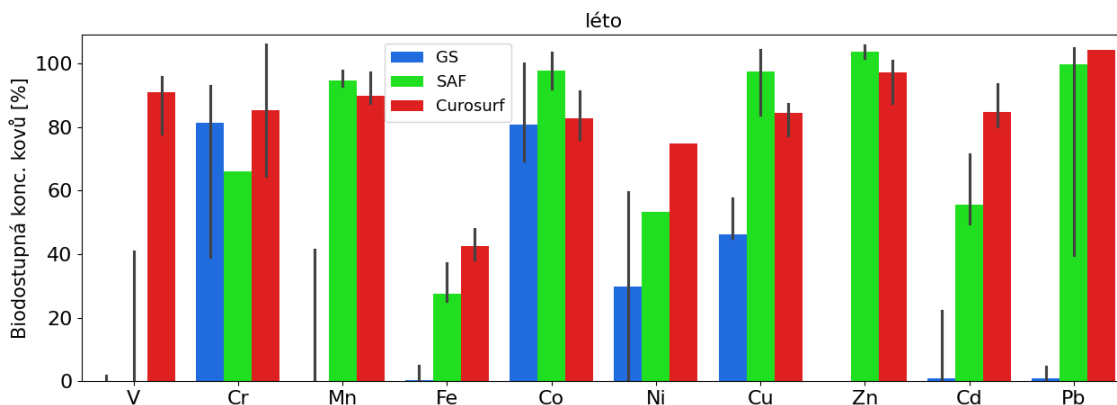
Pro porovnání biodostupnosti v jednotlivých kapalinách byl podle Levene testu (p-hodnoty: léto: 0,644; zima: 0,105) homogenní rozptyl mezi hodnotami jednotlivých kapalin. Podle Friedmanova testu byl mezi jednotlivými SLF nalezen statisticky významný rozdíl (p-hodnoty: léto: 0,004; zima: 0,004). P-hodnoty následného post-hoc testu (Nemenyi test) jsou v Tabulce A25. V obou kampaních byl rozdíl mezi hodnotami biodostupnosti kovů v GS v porovnání s SAF i v porovnání s Curosurf. Biodostupnost v GS byla tedy významně menší než ve zbylých dvou kapalinách

Při zahrnutí obou kampaní dohromady zamítnul Levene test homogenitu rozptylů u biodostupnosti kovů mezi jednotlivými SLF (p-hodnota viz. Tabulka 180). Friedman test (p-hodnota:  $1,447 \cdot 10^{-5}$ ) odhalil statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými kapalinami u biodostupnosti kovů. Nemenyi test (p-hodnoty viz. Tabulka A190) ukazuje, že mezi GS a SAF; a mezi GS a Curosurf existují statistické rozdíly v biodostupnosti kovů.

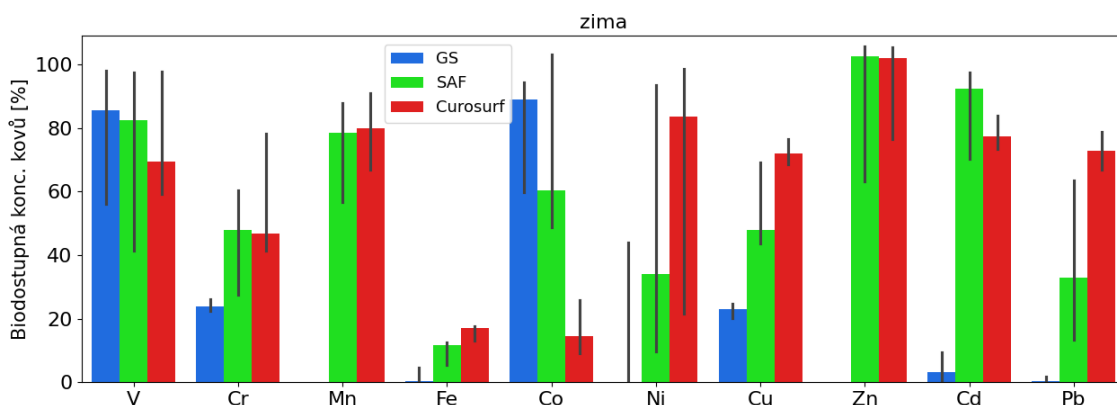
Biodostupnost v GS byla tedy významně menší než ve zbylých dvou kapalinách, a to jak v obou kampaních zvlášť, tak při zahrnutí obou kampaní dohromady.

### 3.4.2 Biodostupná koncentrace jednotlivých kovů

Biodostupné koncentrace jednotlivých prvků navzorkované frakce PM<sub>1</sub> v letní a zimní kampani pro jednotlivé kapaliny jsou pro léto v Graf 6, pro zimu v Grafu 7. Průměrné, minimální a maximální hodnoty jsou v Tabulce A26. Průběh biodostupných koncentrací jednotlivých prvků v jednotlivých SLF jsou v Grafu A6-A8.



Graf 6 Biodostupná koncentrace jednotlivých kovů, léto, sloupcový graf



Graf 7 Biodostupná koncentrace jednotlivých kovů, zima, sloupcový graf

Zhruba polovina souborů dat o biodostupné koncentraci jednotlivých kovů v jednotlivých SLF v letní kampani nevykazovala dle Shapiro-Wilks testu normální rozložení (p-hodnoty viz. Tabulka A27). Pro zimní kampaň byla sice většina biodostupných koncentrací jednotlivých kovů z normálního rozložení, ale pro lepší interpretaci a vzájemné porovnání byly nadále použity neparametrické varianty statistických testů (p-hodnoty viz. Tabulka A28). V Tabulce A141 (p-hodnoty) lze vidět, že při zahrnutí dat obou kampaní dohromady zhruba u poloviny dat není normální rozložení.

Pro jednotlivé kampaň byly provedeny korelace hodnot biodostupné koncentrace jednotlivých kovů v jednotlivých SLF s teplotou (Spearman korelační koeficienty a p-hodnoty těchto korelací viz. A29-A32), vlhkostí (Tabulka A33-A36), hmotnostní koncentrací PM<sub>1</sub> (Tabulka A37-A40), celkovou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka

A41-A44) a biodostupností kovů (Tabulka A45 – A48). Pro obě kampaně dohromady byly rovněž provedeny korelace s teplotou, vlhkostí, hmotnostní koncentrací PM<sub>1</sub> (Tabulka A151-A156), celkovou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka A157 a A158) a biodostupností kovů (Tabulka A159 a A160). Rovněž byly zkoumány korelace biodostupných koncentrací jednotlivých kovů mezi sebou (obě kampaně zvlášť viz. Tabulka A49-A60, dohromady viz. Tabulka A161-A166). Také byly zkoumány korelace mezi jednotlivými SLF (obě kampaně zvlášť viz. Tabulka A61-A64, dohromady viz. Tabulka A180 a A181).

Biodostupné koncentrace Cu a Pb v SAF; Cu a Co v Curosurf byly v letní kampani významně kladně korelovány s teplotou. V zimní kampani byly nalezeny statisticky významné záporné korelace s teplotou u biodostupné koncentrace Fe v GS; V, Cr a Zn v SAF a Mn v Curosurf. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byla teplota významně kladně korelována s biodostupnou koncentrací Cr a Cu v GS; Mn, Fe, Cu a Pb v SAF; a Fe, Cu a Pb v Curosurf; ale záporně s biodostupnou koncentrací V v GS; V a Cd v SAF.

Pro vlhkost byla nalezena statisticky významná korelace pouze v zimní kampani s biodostupnou koncentrací kovu v GS, a to záporná pro V a kladná pro Pb.

V zimní kampani byla hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub> významně kladně korelována s biodostupnou koncentrací Zn a Cd v SAF; Mn, Cu a Cd v Curosurf. Naopak záporné korelace byly v zimní kampani pozorovány pro Ni a Cd v GS. Pro obě kampaně dohromady byla hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub> významně kladně korelována s biodostupnou koncentrací Cu ve všech SLF, Fe v SAF a Curosurf a Cd navíc ještě pouze v Curosurf.

Biodostupná a celková koncentrace daného kovu byla kladně korelována v létě pro V v GS a SAF; Cd v SAF; v zimě pro V a Cd v Curosurf; a Cd v SAF. Naopak záporné korelace mezi biodostupnou a celkovou koncentrací byla pozorována v létě pro Cr a Pb v GS; Mn v GS i Curosurf; v zimě pro Fe a Cd v GS; Ni a Zn v SAF; a Ni a Cr v Curosurf. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byla mezi biodostupnou a celkovou koncentrací nalezena kladná korelace V v Curosurf; naopak záporné korelace pro Zn v SAF a Ni v Curosurf.

Biodostupnost sumy všech kovů byla významně kladně korelována s biodostupnou koncentrací Mn a Fe v GS v létě; Fe v GS; Cu a Cd v SAF; a Cu a Mn v Curosurf v zimě. Pro obě kampaně dohromady byly nalezeny významné kladné korelace biodostupnosti kovů s biodostupnou koncentrací Mn, Fe a Cu ve všech SLF; Pb v SAF a Curosurf; Co a Cd pouze v Curosurf. Tyto korelace ukazují, které kovy přispívají větší měrou k biodostupnosti kovů.

Významně kladně byly korelovány biodostupné koncentrace V s Pb; Mn s Fe, Cd a Pb; a Fe s Cd v GS; Pb s Fe a Cu v SAF; Fe s Mn a V; Co s Cu; a Cd s Zn v Curosurf v letní kampani, a Cr s Co; a Ni s Cd v GS; Mn s Fe a Cd v SAF; Zn s Fe a Cu; a Mn s Cu v Curosurf. Naopak významné záporné korelace byly zjištěny v zimní kampani, a to Fe s Ni v GS; a Co s Cu v SAF. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byly významně

kladně korelovány biodostupné koncentrace Mn s Fe, Cu, Cd a Pb; a Cr s Cu v GS; Mn s Fe a Cu; Pb s Fe a Cu; Fe s Cu v SAF; Mn s V, Fe, Cu a Cd; Fe s V, Cu, Cd a Pb; Co s Cr a Cu; a Cu s Cd v Curosurf. Významné záporné korelace obou kampaní dohromady pak byly pro V Cr a Cu; Fe s Ni v GS; V s Mn a Pb; a Co s Cd v SAF; Ni s V v Curosurf.

Statisticky významné kladné korelace mezi jednotlivými SLF byly nalezeny v letní kampani mezi GS a SAF u biodostupné koncentrace V; mezi GS a Curosurf u Cd; a mezi SAF a Curosurf u Mn; v zimní kampani kampaní mezi SAF a Curosurf u Mn. Statisticky významné záporné korelace byly v zimě mezi mezi GS a SAF u Co a Cd; a mezi GS a Curosurf u Cd. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byly významné kladné korelace zjištěny mezi všemi SLF u Cu; mezi GS a SAF u V; a mezi SAF a Curosurf u Mn, Fe a Pb. Významné záporné korelace pak byly pro obě kampaně dohromady mezi GS a SAF u V.

Co se týče naměřených hodnot, lze je pro GS srovnat u některých kovů s hodnotami, které vyhodnotili Wiseman a Zereini (2014) ve Frankfurtu po vzorkování PM<sub>1</sub> trvajícím déle než rok [178]. Konkrétně se jedná o biodostupnou koncentraci Cu (48 %) obdobnou letní kampani této práce; Cr (21 %) a Ni (12 %) obdobnou zimní kampani této práce; Pb (5 %) obdobnou oběma kampaním a Mn (8 %) obdobnou při zahrnutí obou kampaní dohromady.

U biodostupné koncentrace některých kovů v SLF byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi letní a zimní kampaní (Mann-Whitney U test, p-hodnoty viz. Tabulka A65). Konkrétně v létě vykazovalo větší biodostupnou koncentraci Cr, Cu v GS; Mn, Fe, Cu v SAF; Fe, Co, Cu v Curosurf než v zimě. Naopak nižší biodostupná koncentrace v létě oproti zimě byla u V v GS i SAF; Cd v SAF. Povětšinou to souvisí s naměřenou korelací biodostupností těchto kovů s teplotou a u některých kovů s hmotnostní koncentrací. Cigánková a kol. (2021) zjistili při zkoumání biodostupnosti v GS a SAF podobné chování u Cu, avšak opačné chování u V [181]. K tomu Ni a Pb měly v její studii vyšší biodostupnost v létě než v zimě. Zjištěné rozdíly mezi biodostupností kovu během ročních období jsou pravděpodobně způsobeny různým složením PM a různými zdroji prvku [166]. Rozdíl mezi kampaněmi může být také způsobený rozdílnou chemickou formou, ve které je v aerosolu prvek přítomen. To poté ovlivňuje jeho schopnost vytvářet rozpustné komplexy.

Pro porovnání jednotlivých simulovaných plicních kapalin byl u některých kovů nehomogenní rozptyl (Levene test, p-hodnoty viz Tabulka A66). Kvůli chybějícím hodnotám u biodostupné koncentrace některých kovů byl namísto Friedman testu použit Kruskal-Wallis pro jeho větší robustnost vůči různě dlouhým souborům dat. P-hodnoty tohoto testu (Tabulka A67) ukázaly, že existuje statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými SLF u biodostupné koncentrace všech kovů (kromě Ni) alespoň v jedné kampani. Následně byl použit Nemenyi test jako post-hoc test k Friedman testu. Ten odhalil, že existují významné rozdíly mezi GS a SAF v létě u biodostupné koncentrace Cr, Mn, Co, Cu a Zn; v zimě u biodostupné koncentrace Zn a Cd, kdy kromě Cr v létě

byla větší biodostupnost u SAF než u GS. Mezi GS a Curosurf jsou významné rozdíly u biodostupné koncentrace V, Fe, Cd a Pb v létě; Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn a Pb v zimě, kdy kromě Co v zimě byla větší biodostupnost u Curosurf než u GS. Mezi SAF a Curosurf byly nalezeny statisticky významné rozdíly pouze v letní kampani, a to u biodostupné koncentrace V (vyšší u Curosurf) a Co (vyšší u SAF). P-hodnoty Nemenyi testu pro léto, resp. pro zimu jsou v Tabulce A68, resp. A69.

Při zahrnutí obou kampaní dohromady zamítnul Levene test homogenitu rozptylů u některých biodostupných koncentrací kovů mezi jednotlivými kapalinami (p-hodnota viz. Tabulka A183). Kruskal-Wallis test (p-hodnoty viz. Tabulka A191) odhalil statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými SLF u biodostupné koncentrace většiny kovů. Nemenyi test (p-hodnoty viz. Tabulka A192) pak ukázal, že u biodostupných koncentrací Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Cd a Pb existují rozdíly jak mezi GS a SAF, tak mezi GS a Curosurf. Navíc mezi GS a Curosurf byl nalezen rozdíl u biodostupné koncentrace Ni; a mezi SAF a Curosurf byl nalezen významný rozdíl u biodostupné koncentraci Co a Pb. Biodostupná koncentrace většiny kovů je nejnižší v GS, zatímco v SAF je srovnatelná s biodostupnou koncentrací v Curosurf. Naproti tomu Coufalík a kol. (2016) shledali, že SAF vykazuje podobné chování při studiu biodostupnosti kovů jako GS [157]. Podle této práce je rozdílnost mezi biodostupností v jednotlivých kapalinách způsobena rozdílným složením a povrchovým napětím jednotlivých SLF. GS obsahuje kyselé látky (citrát, acetát), které napomáhají rozpouštění kovů. SAF obsahuje méně solí a má mnohem nižší povrchové napětí než GS. SAF navíc obsahuje DPPC, což je fosfolipid, který je významnou součástí fyziologického surfaktantu [182]. Vzhledem k tomu, že pH použitých SLF je podobné (7,4), nemělo by pH mít vliv na rozdílnou biodostupnost mezi kapalinami. Cigánková a kol. (2021) také naměřili srovnatelnou biodostupnost Cd, Mn, Fe, Cr, Co, Cu a Ni u frakce PM<sub>1</sub> mezi GS a SAF [181]. U V naměřili vyšší biodostupnou koncentraci v GS než v SAF, naopak u Zn vyšší koncentraci v SAF než v GS.

Pro porovnání biodostupných koncentrací jednotlivých kovů mezi sebou byl u některých kovů zjištěn nehomogenní rozptyl (Levene test, p-hodnoty viz Tabulka A70). Ze stejného důvodu, jako při porovnání jednotlivých SLF byl i zde použit Kruskal-Wallis test, který odhalil že v obou kampaních byl mezi biodostupnými koncentracemi jednotlivých kovů ve všech SLF statisticky významný rozdíl (p-hodnoty viz. Tabulka A71). P-hodnoty následných Nemenyi testů jsou v Tabulce A72 – A77. V létě se biodostupné koncentrace v GS lišily mezi Co a V, Mn, Fe a Zn; Cr a Mn, Zn; v SAF mezi Co a V, Fe; Zn a V, Cr; v Curosurf mezi Pb a V, Fe, Co, Cu a Cd; Zn a Fe. V zimě se biodostupné koncentrace v GS lišily mezi Co a Mn, Zn, Pb; V a Mn, Zn, Pb; Cr a Mn, Zn; v SAF mezi Fe a Zn, Cd; v Curosurf mezi Zn a Fe, Co. Biodostupné koncentrace jednotlivých kovů lze na základně statistických testů rozřadit do tří skupin, kdy jedna skupina byla významně vyšší oproti některým dalším kovům, u druhé skupiny nebyl nalezen žádný významný rozdíl, a třetí skupina byla významně nižší než některé jiné kovy. Pro jednotlivé kapaliny a kampaně je toto seřazení v Tabulce 5.

Tabulka 5 Rozřazení kovů dle biodostupnosti v jednotlivých SLF pro letní a zimní kampaň

SLF	GS		SAF		Curosurf	
	Léto	Zima	Léto	Zima	Léto	Zima
Nejvyšší biod.	Co, Cr	Co, V, Cr	Co, Zn	Zn, Cd	Zn	Pb, Zn
Střední biod.	Ni, Cu, Cd, Pb	Fe, Ni, Cu, Cd	Mn, Ni, Cu, Cd, Pb	V, Cr, Mn, Co, Ni, Pb	V, Cr, Mn, Ni, Cu, Cd, Pb	Cr, Mn, Ni
Nejnižší biod.	V, Mn, Fe, Zn	Mn, Zn, Pb	V, Fe, Cr	Fe	Fe, Co	V, Fe, Co, Cu, Cd

Při zahrnutí obou kampaní dohromady zamítnul Levene test homogenitu rozptylů u biodostupných koncentrací jednotlivých kovů mezi sebou ve všech SLF (p-hodnota viz. Tabulka A184). Kruskal-Wallis test (p-hodnoty viz. Tabulka A186) odhalil, že mezi biodostupnými koncentracemi jednotlivých kovů existuje statisticky významné rozdíly. Nemenyi test (p-hodnoty viz. Tabulka A187-A189) odhalil, že se jednalo o rozdíly v GS mezi biodostupnými koncentracemi Co s Mn, Fe, Ni, Zn, Cd a Pb; Cr s Mn, Fe, Zn a Pb; Cu s Mn a Zn; v SAF mezi Fe a Mn, Co, Zn a Cd; Zn s V, Ni, a Pb; v Curosurf mezi Fe a Mn, Ni, Zn, Cd a Pb; Co a Zn. Tady rozřazení kovů do skupin dle velikosti biodostupné koncentrace v jednotlivých SLF je v Tabulce 6.

Tabulka 6 Rozřazení kovů dle biodostupnosti v jednotlivých SLF pro obě kampaně dohromady

SLF	GS	SAF	Curosurf
Nejvyšší biod.	Co, Cr, Cu	Mn, Co, Zn, Cd	Mn, Ni, Zn, Cd, Pb
Střední biod.	V	Cr, Ni, Cu	V, Cr, Cu
Nejnižší biod.	Mn, Fe, Ni, Zn, Cd, Pb	Fe, V, Ni, Pb	Fe, Co

Různá biodostupnost může záviset nejen na daném kovu, ale i na složení dané SLF nebo obsahu dalších složek aerosolu, kdy významné korelace biodostupných koncentrací jednotlivých kovů mohou být způsobené vzájemnými interakcemi mezi kovy a dalšími složkami aerosolu. V, Cu a Co mělo vyšší biodostupnou koncentraci v GS a naopak Pb a Mn nižší než jiné kovy ve studii Wiseman a Zereini (2014) při analýze aerosolu ve Frankfurtu [178]. Ve studii Coufalíka a kol. (2016) mělo V ze všech kovů největší biodostupnou koncentraci ve všech studovaných SLF [157]. V této práci mělo V největší biodostupnou koncentraci v GS v zimní kampani, kdy byl dokázán statisticky významný rozdíl oproti některým jiným kovům (Mn, Zn a Pb). Naopak v létě v této práci patřilo V v GS a SAF k kovům s nejmenší biodostupnou koncentrací. Ve studii Cigánkové (2021) byla biodostupnost Pb, Cr a Fe v SAF nižší než pro jiné kovy [181]. Biodostupnost jednotlivých kovů z PM v Curosurf nebyla doposud studována. Theodorou a kol. (2016)

studovali pomocí ZnO nanovláken rozpustnost Zn v Curosurf a zjistili, že tato SLF zpomalovala rozpouštění Zn oproti použití DPPC [183]. Inhibiční vliv na rozpustnost některých kovů by mohlo být efektem interakce kovu s fosfolipidy obsaženými v Curosurf [184]. Biodostupnost Pb, které v této práci patřilo do skupiny kovů nejméně biodostupných v SAF, byla pravděpodobně negativně ovlivněna nízkou přítomností organických kyselin, které jinak mají kladný vliv na rozpustnost Pb, a vyšší přítomnost fosforečnanů, které naopak snižují rozpustnost olova, což potvrzují Zuo a kol. (2014) [185]. Přítomnost fosforečnanu v Curosurf tak může vysvětlovat obdobné chování biodostupnosti některých kovů s biodostupností v SAF.

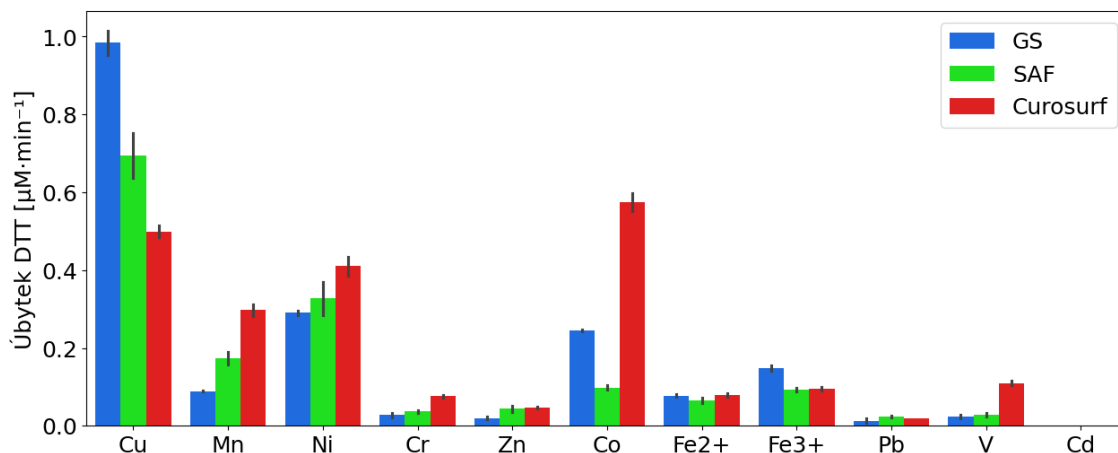
### 3.5 Oxidativní potenciál

V této práci byla pro studium oxidačních účinků využita metoda DTT. Calas a kol. (2017) dokázali důležitost použití SLF při studiu OP in vitro [186]. Gambblův roztok je pro studium oxidačních účinků metodou DTT běžně používán. SAF je nově navrženou SLF na UIACH AV ČR a pro studium OP se používá velmi krátce. Oxidativní potenciál pomocí Curosurf nebyl dosud pro standardní roztoky kovů ani reálných vzorků studován.

#### 3.5.1 OP standardních vzorků

Oxidativní potenciál jednotlivých kovů byl studován nejprve pomocí standardních roztoků. Pro 6 vzorků (slepý vzorek SLF a 5 různých koncentrací daného kovu v SLF) byla v 5 různých časech sledována snižující se absorbance při vlnové délce 412 nm. Graf 8 znázorňuje úbytek DTT v čase v standardních 1  $\mu\text{M}$  roztocích jednotlivých kovů v GS, SAF a Curosurf. Ukázka závislosti absorbance na koncentraci standardního roztoku Cu v GS je uvedena v Grafu A13. V tomto grafu je také proložena lineární regrese této závislosti ze které byla získána závislost rychlosti úbytku DTT na koncentraci standardních roztoků kovů, která je pro jednotlivé simulované plicní kapaliny znázorněna v Grafu A14-A16. Tuto závislost lze proložit křivkou, která má rovnici mocninné funkce (viz. Rovnice (4)). Hodnoty spotřeby DTT v 1  $\mu\text{M}$  koncentraci standardních roztoků kovů jsou v Tabulce A78. Koeficienty proložené křivky závislosti spotřeby DTT

na koncentraci ve standardních roztocích kovů jsou v Tabulce A79.



Graf 8 Úbytek DTT v standardních vzorcích o koncentraci 1 µM kovů v SLF, sloupcový graf

Analyzovány dále byly hodnoty spotřeby DTT v 1 µM koncentraci standardních roztoků kovů a koeficienty *a* a *b* proložené křivky závislosti spotřeby DTT na koncentraci ve standardních roztocích kovů. Vzhledem k malému souboru dat, nebyla testována normalita rozložení.

U roztoku Cd byla spotřeba DTT neměřitelná ve všech SLF. Charrier a Anastasio (2012) [112] ani Cigánková (2021) [166] neměřili nárůst spotřeby DTT u roztoku Cd. Oxidační účinky Cd byly nalezeny ve studiích využívajících jiné metody. Toplan a kol. (2003) metodou pomocí kyseliny thiobarbiturové zjistili, že Cd způsobovalo peroxidaci melondialdehydu a inhibici antioxidačních procesů přímo v organismu [187]. Pourhamad a kol. (2003) zase fluorescenční metodou potvrdili zvyšování ROS v přítomnosti Cd v jaterních buňkách [188]. Je možné, že reakce Cd s některými látkami obsaženými v SLF způsobují zpomalování oxidačních účinků.

Mezi jednotlivými kovy byl podle Kruskal-Wallis testu nalezen statisticky významný rozdíl spotřeby DTT v každé SLF, a to jak při analýze 1 µM koncentrace kovu, tak při analýze koeficientů proložené funkce (p-hodnoty viz Tabulka A80). Výsledné p-hodnoty Dunn testu použitého jako post-hoc test jsou v Tabulce A81 – A89. Tento test však u žádné SLF neodhalil žádnou dvojici kovů, u které by se spotřeba DTT statisticky lišila, a to jak při analýze 1 µM koncentrace kovů, tak při analýze koeficientů proložené funkce. To je pravděpodobně způsobeno malým množstvím vzorků pro každý analyzovaný prvek.

Tabulka A91-A93 ukazuje procentuální porovnání spotřeby DTT ve standardních 1 µM roztocích jednotlivých kovů v jednotlivých SLF. V GS a SAF dosahovala spotřeba DTT nejvyšších hodnot u Cu, kdy její hodnota v GS byla minimálně 400 % oproti ostatním kovům, v SAF byla minimálně 200 % oproti ostatním kovům. V Curosurf dosáhlo Co na vyšší hodnoty spotřeby DTT než Cu. Nejnížší spotřebu DTT vykazovalo ve všech

SLF Pb. Kovy lze seřadit do čtyř kategorií podle velikosti zjištěné spotřeby DTT v jednotlivých SLF, což je prezentováno v Tabulce 7.

Tabulka 7 Rozřazení kovů podle spotřeby DTT v 1  $\mu\text{M}$  roztocích v jednotlivých SLF

SLF	GS	SAF	Curosurf
Vysoká $\Delta\text{DTT}$ ( $>0,3 \mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$ )	Cu	Cu	Co, Cu, Ni
Střední $\Delta\text{DTT}$ ( $0,1-0,3 \mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$ )	Ni, Co, $\text{Fe}^{3+}$	Ni, Mn	Mn, V
Nízká $\Delta\text{DTT}$ ( $0-0,1 \mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$ )	Mn, $\text{Fe}^{2+}$ , Cr, V, Zn, Pb	Co, $\text{Fe}^{3+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ , Zn, Cr, V, Pb	$\text{Fe}^{3+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ , Cr, Zn, Pb

Tabulka A94-A96 ukazuje procentuální porovnání koeficientu  $a$  a Tabulka A97-A99 ukazuje procentuální porovnání koeficientu  $b$  proložené křivky spotřeby DTT ve standardních roztocích jednotlivých kovů v SLF. Koeficient  $a$  způsobuje násobení mocninné křivky a vizuálně ovlivňuje strmost křivky. Mocnitel proložené křivky je reprezentován koeficientem  $b$ . Rozřazení kovů na základě rozdílnosti hodnot koeficientů proložené křivky by mohlo být takové, jako je v Tabulce 8.

Tabulka 8 Rozřazení kovů podle koeficientů proložené křivky závislosti spotřeby DTT na koncentraci v jednotlivých SLF

SLF	GS		SAF		Curosurf	
	a	b	a	b	a	B
Vysoké $a >0,5$ $b >0,5$	Cu	V, Ni	Cu	Ni, Co, V	Co, Cu	Ni, V, Co, $\text{Fe}^{2+}$
Střední $a: 0,1-0,5$ $b: 0,3-0,5$	Ni, Co, $\text{Fe}^{3+}$	Co, Pb, Cd, Cu	Ni, Mn	Cu, Cd, Mn, Zn,	Ni, Mn, V, $\text{Fe}^{3+}$	Cu, Cd, Mn, Cr, $\text{Fe}^{3+}$
Nízké $a: 0-0,1$ $b: 0-0,3$	Mn, $\text{Fe}^{2+}$ , V, Cr, Zn, Pb	$\text{Fe}^{3+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ , Zn, Mn, Cr	Co, $\text{Fe}^{3+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ , Zn, Cr, V, Pb	Pb, Cr, $\text{Fe}^{2+}$ , $\text{Fe}^3$	Cr, $\text{Fe}^{2+}$ , Zn, Pb,	Pb,Zn

Při porovnávání jednotlivých SLF nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl ani v jednom roztoku kovu (Kruskal-Wallis test, viz. Tabulka A90). Procentuální porovnání jednotlivých SLF u spotřeby DTT, koeficientů  $a$  a  $b$  proložené křivky spotřeby DTT ve standardních roztocích jednotlivých kovů je v Tabulce A100-A102. V Tabulce 9 porovnání SLF u jednotlivých kovů podle spotřeby DTT v 1  $\mu\text{M}$  roztocích kovů v dané SLF, a podle koeficientů proložené křivky závislosti spotřeby DTT na koncentraci prvků. U každého kovu jsou seřazeny kapaliny podle velikosti dané hodnoty, přičemž pokud hodnoty u kapalin byly srovnatelné, jsou tyto kapaliny sdruženy do závorek.

Tabulka 9 Porovnání SLF u jednotlivých kovů podle spotřeby DTT v 1  $\mu\text{M}$  roztocích kovů v dané SLF, a podle koeficientů proložené křivky závislosti spotřeby DTT na koncentraci kovů

	$\mu\text{M}$	a	B
Cu	GS, SAF, Curosurf	GS, SAF, Curosurf	SAF a Curosurf, GS
Mn	Curosurf, SAF, GS	Curosurf, SAF, GS	SAF, Curosurf, GS
Ni	Curosurf, SAF, GS	Curosurf, SAF, GS	Curosurf, (SAF a GS)
Cr	Curosurf, SAF, GS	Curosurf, (SAF a GS)	Curosurf, SAF, GS
Zn	(Curosurf a SAF), GS	Curosurf, SAF, GS	SAF, GS, Curosurf
Co	Curosurf, GS, SAF	Curosurf, GS, SAF	Curosurf, SAF, GS
Fe <sup>2+</sup>	(Curosurf a GS), SAF	GS, (Curosurf a SAF)	Curosurf, SAF, GS
Fe <sup>3+</sup>	GS, (Curosurf a SAF)	GS, Curosurf, SAF	Curosurf, SAF, GS
Pb	SAF, Curosurf, GS	SAF, Curosurf, GS	GS, SAF, Curosurf
V	Curosurf, (SAF a GS)	Curosurf, (GS a SAF)	GS, Curosurf, SAF

U koeficientu  $a$  je trend rozřazení kovů i kapalin velmi podobný jako u analýzy 1  $\mu\text{M}$  roztoků. To značí, že výsledná spotřeba DTT je více závislá na násobku mocninného vztahu než na samotném mocniteli.

Charrier a Anastasio (2012) testovali stejné kovy jako byly testovány v této práci [112]. Při analýze 1  $\mu\text{M}$  roztoků kovů v deionizované vodě zaznamenali největší spotřebu DTT u roztoku Cu a Mn. Jasnou odezvu měli také prvky Co, V, Ni a Pb. U obou oxidačních stavů železa (Fe<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup>) uvádí, že přes malou odezvu při tomto pokusu mohou mít vliv na spotřebu DTT reálných vzorků z důvodu jejich vysokého množství v ovzduší. U Cr, Zn a Cd nezaznamenali měřitelnou spotřebu DTT. Naopak Co je podle nich málo obsaženo v atmosféře, tudíž i přes poměrně vysoké oxidační účinky, nepřispívá mnoho k oxidaci vyvolané PM. Cigánková (2021) ve své práci studovala oxidační účinky kovů v GS, SAF a deionizované vodě [166]. Naměřila vysokou spotřebu u roztoku Cu ve všech kapalinách. Reaktivita Mn v SAF byla velmi vysoká jen v deionizované vodě. Výsledné hodnoty spotřeby DTT v roztoku Mn jsou v této práci porovnatelné pouze pro SAF v práci Cigánkové (2021).

Při nižších koncentracích kovu je oxidace efektivnější, což dokazuje mocninný vztah spotřeby DTT na koncentraci kovu, což odpovídá studii Charrier a Anastasio (2012) [112]. Tato nižší efektivita může být způsobena tím, že při vyšší koncentraci kovu roste pravděpodobnost vzniku hůře rozpustných komplexů [189].

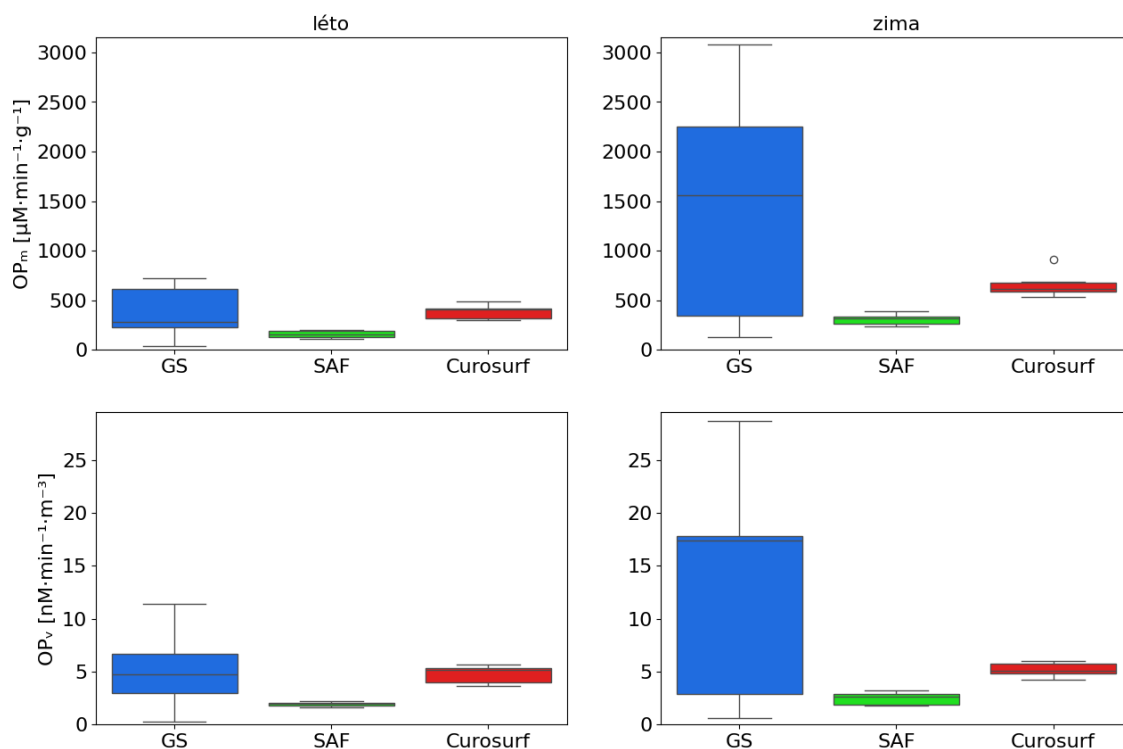
Oxidativní potenciál standardních roztoků kovů v Curosurf nebyl doposud prostudován. Sweeney a kol. pozorovali OP v izolovaných buňkách, kdy po přidání Curosurf nebyla pozorována žádná změna oproti běžně používanému mediu [190]. U Curosurf byl zjištěný možný vyšší oxidační účinek než u přírodního surfaktanu, což lze ale mírně korigovat přidáním antioxidantů [191]. Interakce Curosurf a některých kovů zkoumal Jia a kol (2019), kdy zjistil cytotoxicitu v buňkách za současné přítomnosti Cr a Pb [192]. Se zvyšující se koncentrací Curosurf se tato toxicita snižovala.

Což bylo způsobeno zvýšením celulórní autofagie, která zmírňuje částicemi vyvolanou toxicitu. Dani a kol. (2009) zjistili nižší OP v Curosurf oproti jiným komerčním plicním kapalinám [193]. Neškodnost používání Curosurf byla studována Bouhafs a kol. (2003), kdy nebyla pozorována žádná změna v produkci ROS po přidání Curosurfu k neutrofilním bílým krvinkám.

Při použití Curosurf byly v této práci hodnoty spotřeby DTT např. u Mn, Co a V znatelně vyšší a naopak např. u Cu znatelně nižší než při použití ostatních SLF. To naznačuje, že různé SLF nepůsobí pouze posilujícími či inhibujícími účinky na spotřebu DTT, ale vliv může mít i reakce daného kovu s chemickými látkami obsaženými v dané kapalině. Závislost oxidačního účinku na použité kapalině je v jiných studiích nejlépe pozorovatelná u Mn, kdy při použití deionizované vody místo SLF je spotřeba DTT velmi vysoká, zatímco různé SLF jeho oxidační účinky výrazně inhibují, kdy tato inhibice je různá pro různé SLF [112] [166]. V GS je obsažen citrát, který může způsobit tvorbu komplexů některých kovů což sníží oxidaci DTT. Složení SLF může také ovlivnit rozpustnost kovu, což má následně vliv na oxidační účinky [194]. Důvodem toho, že největší spotřebu DTT má roztok Cu může být to, že se z kovů nejsilněji váže na DTT [195].

### 3.5.1 OP reálných vzorků

Obdobně jako oxidační potenciál standardních vzorků byl analyzován i OP reálných vzorků. Při analýze OP reálných vzorků však byla spotřeba DTT navíc normalizována na hmotnost  $PM_{10}$  ( $OP_m$ ) a na objem prosátého vzduchu při vzorkování ( $OP_v$ ).  $OP_m$  bývá používáno pro studium oxidačních účinků v závislosti na vlastnostech, složení a velikosti částic PM [196].  $OP_v$  je vhodnější pro studium skutečných oxidačních účinků inhalovaného objemu vzduchu, protože charakterizuje expozici aerosolu. Oxidační potenciál reálných vzorků normalizovaný jak na hmotnost navzorkovaného  $PM_{10}$ , tak na prosátý objem, v jednotlivých kapalinách v létě a v zimě lze vidět v Grafu 9. Průběh  $OP_m$  a  $OP_v$  během letní a zimní kampaně je v Grafu A9 a A10. Průměrné hodnoty jsou vidět v Tabulce A103 a A104.



Graf 9 Oxidativní potenciál reálných vzorků, krabicový graf

Hodnoty oxidativního potenciálu reálných vzorků měly v obou kampaních normální rozložení, a to jak OP<sub>m</sub>, tak OP<sub>v</sub> (Shapiro-Wilks test, Tabulka A105). Při zahrnutí dat z obou kampaní dohromady, vykazovala normální rozložení pouze data u OP<sub>m</sub> v SAF a Curosurf, u OP<sub>v</sub> pouze v Curosurf (p-hodnoty viz. Tabulka A142).

Pro jednotlivé kampaně byly provedeny korelace hodnot OP<sub>m</sub> i OP<sub>v</sub> v jednotlivých SLF s teplotou, vlhkostí, hmotnostní koncentrací PM<sub>1</sub> (Spearman korelační koeficienty a p-hodnoty těchto korelací viz. A106-A111), celkovou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka A112-A123), biodostupností kovů (Tabulka A124 a A125) a biodostupnou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka A126-A133). Pro obě kampaně dohromady byly rovněž provedeny korelace s teplotou, vlhkostí, hmotnostní koncentrací PM<sub>1</sub> (Tabulka A167 a A168), celkovou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka A169-A172), biodostupností kovů (Tabulka A173) a biodostupnou koncentrací jednotlivých kovů (Tabulka A174-A177). Rovněž byly zkoumány korelace OP<sub>m</sub> s OP<sub>v</sub> (obě kampaně zvlášť (Pearson) viz. Tabulka A134, dohromady (Spearman) viz. Tabulka A178). Také byly zkoumány korelace mezi jednotlivými SLF (obě kampaně zvlášť (Pearson) viz. Tabulka A135 a A136, dohromady (Spearman) viz. Tabulka A179).

OP<sub>m</sub> i OP<sub>v</sub> mělo statisticky významnou korelaci s teplotou v zimě v Curosurfu. Hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub> měla s OP<sub>m</sub> v létě v SAF a v zimě v Curosurfu zápornou korelaci; s OP<sub>v</sub> v SAF a Curosurfu kladně v zimní kampani. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byly nalezeny záporné korelace OP<sub>m</sub> v SAF a Curosurfu s teplotou, tak s hmotnostní koncentrací, zatímco OP<sub>v</sub> v Curosurfu s vlhkostí.

V zimě bylo  $OP_m$  významně korelováno kladně v GS s celkovou koncentrací v Cr, záporně v SAF s celkovou koncentrací Cd. U  $OP_v$  byly nalezeny významné kladné korelace v zimě v SAF a v Curosurf s celkovou koncentrací Cd; v létě ve všech SLF s celkovou koncentrací Cr; a k tomu ještě v SAF a Curosurf s celkovou koncentrací Co; a pouze v Curosurf s celkovou koncentrací V, Mn a Fe. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byly nalezeny významné záporné korelace  $OP_m$  v SAF i Curosurf s celkovou koncentrací V a Co a k tomu ještě v Curosurf s celkovou koncentrací Cd.  $OP_v$  bylo pro obě kampaně dohromady významně kladně korelováno s SAF a Curosurf s celkovou koncentrací V a Co, a k tomu ještě v Curosurf s celkovou koncentrací Cd.

$OP_m$  v Curosurf bylo v zimní kampani významně kladně korelováno s celkovou biodostupností kovů. Naopak při zahrnutí obou kampaní dohromady bylo  $OP_m$  v SAF a Curosurf s biodostupností kovů korelováno negativně.

Byly zjištěny významné záporné korelace  $OP_m$  s biodostupnou koncentrací Mn, Fe a Cu v GS; Fe a Pb v SAF; a Cu v Curosurf, a to pouze v letní kampani;  $OP_v$  v letní kampani s biodostupnou koncentrací Mn v GS a v SAF; Cu v GS; a v zimní kampani o Zn a Cd v SAF; Mn, Cu a Cd v Curosurf. Při zahrnutí obou kampaní dohromady byly významné kladné korelace pro SAF mezi  $OP_m$  a biodostupnou koncentrací Cd a  $OP_v$  s hmotnostní koncentrací V; významné záporné korelace pro GS mezi  $OP_m$  i  $OP_v$  a biodostupnou koncentrací Cd;  $OP_m$  v SAF i Curosurf s biodostupnou koncentrací Mn, Fe a Cu; přičemž  $OP_m$  v Curosurf ještě s biodostupnou koncentrací Cd a Pb

$OP_m$  je s  $OP_v$  statisticky významně korelováno pouze v GS, a to v obou kampaních zvlášť i při zahrnutí kampaní dohromady

SAF a Curosurf byly významně kladně korelovány u  $OP_m$  v letní kampani i při zahrnutí obou kampaní dohromady, u  $OP_v$  v obou kampaních. SAF a GS byly významně kladně korelovány u  $OP_v$  v letní kampani. Při zahrnutí obou kampaní dohromady jsou u  $OP_v$  významně kladně korelovány všechny SLF.

Srovnání letní a zimní kampaně pomocí nezávislého t-testu u  $OP_m$  a  $OP_v$  je v Tabulce A137.  $OP_m$  ve všech SLF bylo významně vyšší v zimě, zatímco  $OP_v$  pouze v SAF. Veld a kol. (2023) nepozorovali v přímořské oblasti rozdíly mezi ročními obdobími, což mohlo být způsobeno vzorkovací lokalitou, kde kontinentálnímu aerosolu přispíval velkou měrou mořský aerosol přítomný ve velké míře po celý rok [197]. Naopak ve velkoměstě pozorovali velké kolísání v průběhu roku, především u OP normalizovaného na hmotnost částic, což ukazuje na důležitost lokálních zdrojů PM. Borlaza a kol. (2022) nezjistili rozdíly v hodnotách mezi létem a zimou, přestože podle nich k hodnotám  $OP_v$  během zimy více přispívalo spalování biomasy a během léta minerální resuspenze [198]. Li a kol. (2021) zjistili opačné chování  $OP_v$  mezi obdobími v závislosti na použité metodě, kdy při použití DTT byl oxidativní potenciál vyšší v zimě, ale při použití kyseliny askorbové byl oxidativní potenciál vyšší v létě [199]. Jejich měření se vztahovalo na oblast okolí řeky Yangtze v Číně, kde v létě přispívaly k OP více lokální emise a v zimě dálkové zdroje z jiných regionů, pravděpodobně produkty spalování.

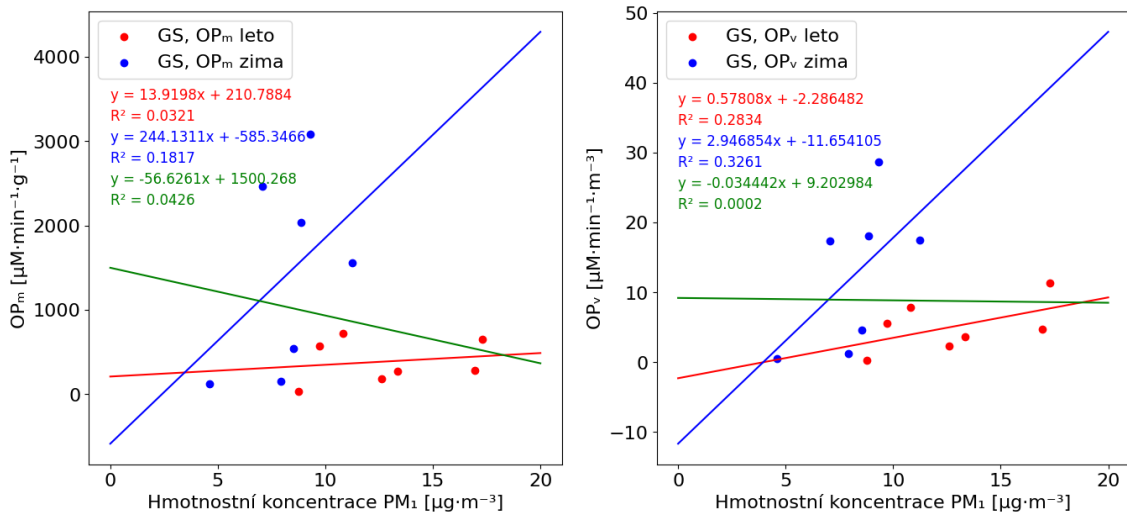
Dále byl porovnáván rozdíl u  $OP_m$  a  $OP_v$  v rámci jednotlivých simulovaných plicních kapalin. Vzhledem k normálnímu rozložení a zamítnutí homogenity rozptylů (Levene test, p-hodnoty:  $OP_m$ : léto: 0,013; zima: 0,000;  $OP_v$ : léto: 0,009; zima: 0,005), byl jako alternativa testu ANOVA použit neparametrický Welche test. Tento test potvrdil statistickou rozdílnost některých kapalin jak u  $OP_m$ , tak u  $OP_v$ , a to v obou kampaních (p-hodnoty:  $OP_m$ : léto: 0,00007; zima: 0,000096;  $OP_v$ : léto: 0,000017; zima: 0,000014). Pomocí post-hoc Games-Howell testu (p-hodnoty upravené bonferroni korekcí viz. Tabulka A138) lze vidět, že statisticky významný rozdíl mají SAF s Curosurf jak u  $OP_m$ , tak u  $OP_v$ , a to v obou kampaních, kdy Curosurf vykazoval mnohem větší OP než SAF.

Při zahrnutí obou kampaní dohromady zamítnul Levene test homogenitu rozptylů jak u  $OP_m$ , tak u  $OP_v$  mezi jednotlivými SLF (p-hodnota viz. Tabulka A182). Friedman test (p-hodnoty:  $OP_m$ :  $1,303 \cdot 10^{-3}$ ;  $OP_v$ :  $1,303 \cdot 10^{-3}$ ) odhalil jak u  $OP_m$ , tak u  $OP_v$  statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými SLF. V Tabulce A193 jsou p-hodnoty Nemenyi testu.  $OP_m$  i  $OP_v$  byly v SAF nižší než v GS a Curosurf. Naopak Cigánková (2021) ve své práci pozorovala srovnatelný  $OP_m$  i  $OP_v$  v GS a SAF. Rozdíly mezi SLF budou spočívat v interakci mezi PM a jednotlivými SLF, kdy roli může hrát různá rozpustnost látek ovlivněná kladně kyselými složkami nebo záporně fosforečnany [185].

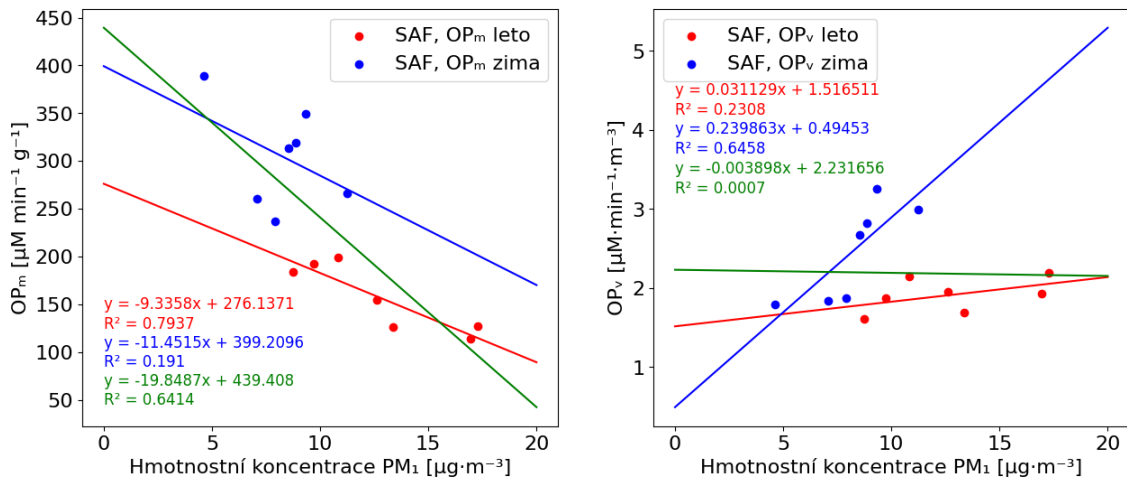
$OP_m$  a  $OP_v$  v jednotlivých kapalinách ve vztahu s hmotnostní koncentrací  $PM_1$  je znázorněn v Grafu 10, 11 a 12, kde červená barva je použita pro léto, modrá barva pro zimu a zelená barva pro zahrnutí obou kampaní dohromady. Tyto grafy ukazují, že oxidativní potenciál není závislý pouze na hmotnostní koncentraci. Zároveň jsou zde uvedeny i koeficienty determinace pro lineární regresi závislosti mezi OP a hmotnostní koncentrací. Většinou je silnější závislost pozorována v zimě než v létě. Zatímco  $OP_m$  a  $OP_v$  v GS jsou velmi podobné, což ve své práci pozorovala i Cigánková (2021) [166]. Ta pozorovala větší rozdíl mezi  $OP_m$  a  $OP_v$  v GS. V této práci je dokonce závislost mezi  $OP_m$  a  $OP_v$  na hmotnostní koncentraci  $PM_1$  opačná.  $OP_v$  je ve všech SLF mnohem méně ovlivněno hmotnostní koncentrací v létě než v zimě, ale při zahrnutí obou kampaní dohromady je tato závislost velmi malá. Caman a kol. (2024) v nedávné studii v Marseille pozorovali souvislost OP s hmotnostní koncentrací  $PM_1$  [200]. V jeho studii  $OP_v$  bylo velkou měrou ovlivněno spalováním biomasy, emisemi lodní dopravy a resuspenzí prachu, přestože částice z těchto zdrojů tolik nepřispívalo hmotnosti  $PM_1$ . Pozorovanou rozdílnost mezi  $OP_m$  a  $OP_v$  mimo jiné způsobovalo to, že zdroje z automobilové dopravy mnohem více ovlivňují  $OP_v$  než  $OP_m$ . Podle Veld a kol. (2023) je OP částic frakce  $PM_1$  ovlivněn emisemi průmyslu, což je lokální faktor [197]. Oxidativní potenciál částic velikostní frakce  $PM_1$  je podle něj ve městech ovlivněn emisemi průmyslu více než OP větších frakcí, kdy pozoroval znatelný vliv Fe a Zn. Při analýze  $PM_1$  na venkově vyzorovali rozdílnost mezi normalizací OP, kdy  $OP_m$  bylo více ovlivněno silničním prachem a zatímco  $OP_v$  organickým uhlíkem. To, že hmotnostní koncentrace nemusí být přímo úměrná OP zjistil i Borlaza a kol. (2022), který v Koreji a na Filipínách pozoroval

snižující se trend hmotnostní koncentrace PM, která se ale neodrazila na změně OP [198]. To potvrzuje i jimi zjištěná záporná korelace mezi  $OP_V$  a koncentrací některých kovů.

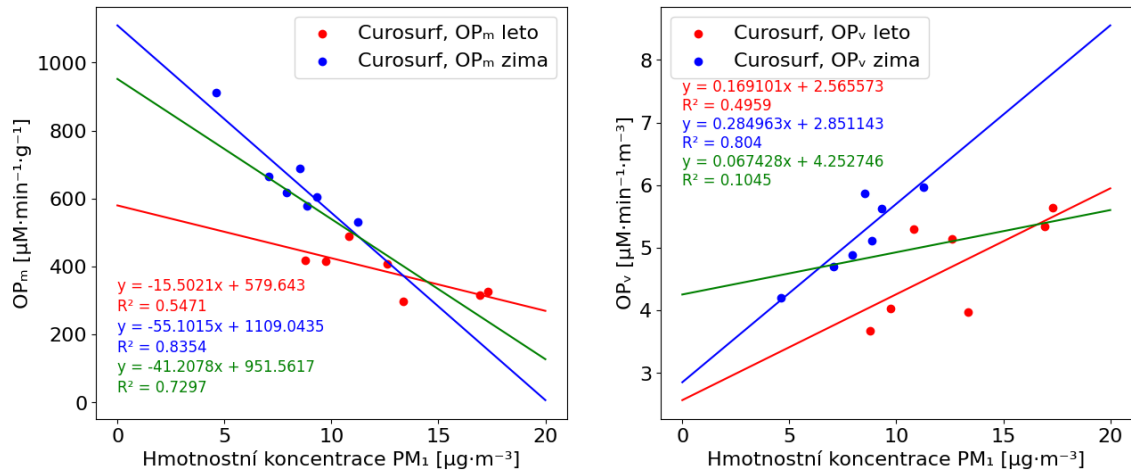
Proměnlivost  $OP_m$  a  $OP_V$  může mít souvislost s naměřenými korelacemi, ať už s teplotou, vlhkostí, hmotnostní koncentrací  $PM_1$ , celkovou, jakož i biodostupnou koncentrací jednotlivých kovů. Zároveň se různé interakce jednotlivých látek mezi sebou i s jednotlivými složkami SLF. Proměnlivost OP při použití metody DTT není ovlivněna pouze kovy, ale i dalšími látkami, např. chinony [112]. Wang a kol. (2018) potvrdili, že metoda DTT je citlivá také na polycyklické aromatické uhlovodíky a látky vzniklé při nedokonalém spalování biomasy [201]. Oxidativní potenciál kromě složení PM a extrakční kapaliny závisí i na velikosti částic [202].



Graf 10 Závislost  $OP_m$  a  $OP_V$  v GS ve vztahu k hmotnostní koncentraci  $PM_1$  (červená – léto, modrá – zima, zelená – obě kampaně dohromady)



Graf 11 Závislost  $OP_m$  a  $OP_V$  v SAF ve vztahu k hmotnostní koncentraci  $PM_1$  (červená – léto, modrá – zima, zelená – obě kampaně dohromady)



Graf 12 Závislost OP<sub>m</sub> a OP<sub>v</sub> v Curosurf ve vztahu k hmotnostní koncentraci PM<sub>1</sub> (červená – léto, modrá – zima, zelená – obě kampaně dohromady)

## 4. ZÁVĚR

Tato diplomová práce se věnuje zdravotním rizikům inhalovaných částic městského aerosolu. Zaměření této práce je především ve studiu inhalační biodostupnosti vybraných kovů, a oxidativního potenciálu standardních roztoků kovů (Cu, Mn, Ni, Cr, Zn, Co, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Pb, V a Cd) a reálných vzorků PM<sub>1</sub> městského aerosolu.

Vzorky PM<sub>1</sub> byly odebírány pomocí velkoobjemového vzorkovače na nitrocelulózové filtry ve dvou kampaních (letní a zimní). Hmotnostní koncentrace těchto částic byla určena gravimetrickou metodou. Filtry byly následně rozděleny na čtyři části, z nichž jedna část byla použita pro stanovení celkové koncentrace vybraných kovů. Zbylé tři části filtrů byly extrahovány do třech různých simulovaných plicních kapalin (Gamblův roztok, simulovaná kapalina plicních sklípků a Curosurf). Po extrakci byla část kapaliny použita pro stanovení inhalační biodostupnosti kovů a část kapaliny byla použita pro stanovení oxidativního potenciálu, který byl normalizován jak na hmotnost částic, tak na průtok vzduchu při vzorkování. Oxidativní potenciál byl stanoven metodou DTT.

Hmotnostní koncentrace PM<sub>1</sub> byla vyšší v letní kampani, kdy byla kladně korelována s teplotou. Nejvyšší celkové koncentrace byly naměřeny pro Fe a Zn, nejnižší naopak pro Co. Celková koncentrace některých kovů korelovala kladně s teplotou a záporně s vlhkostí.

U oxidativního potenciálu standardních roztoků kovů nebyla z důvodu malého souboru dat statisticky vyhodnocena rozdílnost. Nejvyšší oxidativní potenciál byl změřen pro Cu v GS a pro Cu, Mn a Ni v SAF, zatímco v Curosurf byl nejvyšší OP změřen pro Co, Cu a Ni. U některých sů se projevily výrazně větší oxidační účinky v Curosurf než v ostatních SLF.

Biodostupnost některých kovů se velmi lišila v závislosti na použité SLF, přičemž nejnižší byla u Gamblova roztoku. Co v GS měl z kovů nejvyšší biodostupnost, zatímco v Curosurf patřil ke kovům s nejnižší biodostupností, a naopak Zn měl velmi vysokou biodostupnou koncentraci v SAF a Curosurf, zatímco v GS byla biodostupná koncentrace Zn jedna z nejnižších. Rozdílná biodostupnost kovů mezi jednotlivými SLF mohla být způsobena odlišným chemickým složením SLF.

Oxidativní potenciál reálných vzorků vykazoval vyšší hodnoty v zimě než v létě. U reálných vzorků se ukázal nejnižší OP po extrakci filtrů do SAF. Proměnlivost OP souvisí se složením PM, kdy byly nalezeny u OP<sub>m</sub> i OP<sub>v</sub> významné korelace s celkovou i biodostupnou koncentrací některých kovů. U části kovů se však jedná o zápornou korelaci. To se týkalo kovů, které se v PM<sub>1</sub> vyskytovaly v nízkých koncentracích. Jejich vliv na výsledný OP tedy nebyl velký. DTT není citlivé pouze na studované kovy, ale i na jiné látky, které mohly významně přispívat k výslednému OP. Různá závislost na hmotnostní koncentraci mezi OP normalizovaným na hmotnost částic a OP normalizovaným na průtok vzduchu podtrhuje rozdílnost těchto metrik, kdy OP<sub>m</sub> je více

závislé na chemickém složení PM, zatímco OP<sub>v</sub> je závislé na expozici aerosolu, proto je vhodnější pro studium skutečných účinků na lidský organismus.

Tato práce přináší bližší pohled negativních dopadů inhalovaných částic PM<sub>1</sub> na zdraví. Použití Curosurf pro stanovení biodostupnosti kovů a OP PM<sub>1</sub> a standardních roztoků kovů umožňuje unikátní porovnání laboratorně vytvořených SLF s komerční kapalinou, která je využívána při léčbě syndromu respirační tísně u novorozenců.

## 5. BIBLIOGRAFIE

- [1] BRANIŠ, Martin a HŮNOVÁ, Iva. *Atmosféra a klima. Aktuální otázky znečištění ovzduší*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 2011. ISBN 9788024615981.
- [2] SPEIGHT, James G. Sources and Types of Organic Pollutants. online. *Environmental Organic Chemistry for Engineers*. 2017, s. 153-201. ISBN 9780128044926. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804492-6.00004-6>. [cit. 2023-09-20].
- [3] KOLLONIATIS, Michael a LUU, Charles. *Visual Acuity*. online. In: *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. Salt Lake City, USA: University of Utah Health Sciences Center, 1995. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11509/#ch25kallspatial.References>. [cit. 2023-09-30].
- [4] WILSON, William; CLAIBORN, Candis a HAMMING, Brooke. *Air Quality Criteria for Particulate Matter: Chapter 2. Physics, chemistry, and measurement of particulate matter*. online. 1. USA: National Center for Environmental Assessment-RTP Office, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC, 2004. Dostupné z: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=87903>. [cit. 2023-09-23].
- [5] SARANGAPANI, Ramesh; SCHLESINGER, Richard; BROWN, James a WILSON, William. *Air Quality Criteria for Particulate Matter: Chapter 6. Dosimetry of particulate matter*. online. 2. USA: National Center for Environmental Assessment-RTP Office, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC, 2004. Dostupné z: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=87903>. [cit. 2023-09-23].
- [6] HINDS, C. a YIFANG, Zhu. *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. 3. USA: John Wiley & Sons, 1999. ISBN 978-1-119-49406-5.
- [7] Zákon č. 201/2012 Sb. Zákon o ochraně ovzduší. online. In: *Zákony pro lidi*. Česká republika: AION CS, c2010-2024. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-201/zneni-20240101>. [cit. 2024-01-02].
- [8] Vyhláška č. 6/2003 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí obytných místností některých staveb. online. In: *Zákony pro lidi*. Česká

republika: AION CS, c2010-2024. Dostupné z:

<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-6#>. [cit. 2024-01-02].

- [9] WANG, Zuocheng; CALDERÓN, Leonardo; PATTON, Allison; SORENSEN ALLACCI, MaryAnn; SENICK, Jennifer et al. Comparison of real-time instruments and gravimetric method when measuring particulate matter in a residential building. online. 2016, roč. 66, č. 11, s. 1109-1120. ISSN 1096-2247. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10962247.2016.1201022>. [cit. 2023-11-22].
- [10] MCMURRY, P. A review of atmospheric aerosol measurements. online. *Atmospheric Environment*. roč. 34, č. 12-14, s. 1959-1999. ISSN 13522310. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(99\)00455-0](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(99)00455-0). [cit. 2023-11-22].
- [11] CHOW, Judith C. Measurement Methods to Determine Compliance with Ambient Air Quality Standards for Suspended Particles. online. 2012, roč. 45, č. 5, s. 320-382. ISSN 1096-2247. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10473289.1995.10467369>. [cit. 2023-11-22].
- [12] WU, Thomas; HORENDER, Stefan; TANCEV, Georgi a VASILITAU, Konstantina. Evaluation of aerosol-spectrometer based PM2.5 and PM10 mass concentration measurement using ambient-like model aerosols in the laboratory. online. *Measurement*. 2022, roč. 201. ISSN 0263-2241. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.measurement.2022.111761>. [cit. 2023-11-23].
- [13] SHUKLA, Kritika a AGGARWAL, Shankar. A Technical Overview on Beta-Attenuation Method for the Monitoring of Particulate Matter in Ambient Air. online. *Aerosol and Air Quality Research*. 2022, roč. 22, č. 12. ISSN 16808584. Dostupné z: <https://doi.org/10.4209/aaqr.220195>. [cit. 2024-02-11].
- [14] OLIN, JOHN; SEM, GILMORE a CHRISTENSON, DALE. Piezoelectric-Electrostatic Aerosol Mass Concentration Monitor. online. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 2010, roč. 32, č. 4, s. 209-220. ISSN 0002-8894. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/0002889718506441>. [cit. 2024-02-11].
- [15] FINLAYSON-PITTS, Barbara a PITTS, James. *Chemistry of the upper and lower atmosphere: theory, experiments, and applications*. San Diego: Academic Press, 2000. ISBN 01-225-7060-X.
- [16] ZHANG, Jinsheng; PENG, Jianfei; SONG, Congbo; MA, Chao; MEN, Zhengyu et al. Vehicular non-exhaust particulate emissions in Chinese megacities: Source profiles, real-world emission factors, and inventories. online. *Environmental Pollution*. 2020, roč. 266. ISSN 02697491. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115268>. [cit. 2023-11-28].
- [17] SALOMON, Paul; NORRIS, Garry; LANDIS, Mathew a TOLOCKA, Michael. Chemical analysis methods for atmospheric aerosol components. online. *Aerosol Measurement*. 2001, s. 261-293. Dostupné z:

- [https://www.researchgate.net/publication/234137358\\_Chemical\\_analysis\\_methods\\_for\\_atmospheric\\_aerosol\\_components](https://www.researchgate.net/publication/234137358_Chemical_analysis_methods_for_atmospheric_aerosol_components). [cit. 2023-11-24].
- [18] TEMPLETON, D. L. Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES) and inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). online. In: SEILER, Hans; SIGEL, Astrid a SIGEL, Helmut. *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*. USA: Marcel Dekker, Inc, 1994, s. 167–180. ISBN 9780824790943. Dostupné z: [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Handbook+on+metals+in+clinical+and+analytical+chemistry&author=DM+Templeton&publication\\_year=1994&](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Handbook+on+metals+in+clinical+and+analytical+chemistry&author=DM+Templeton&publication_year=1994&). [cit. 2024-01-02].
- [19] PAUL SCHERRER INSTITUT. *Aerosol mass spectrometer*. online. In: PAUL SCHERRER INSTITUT. Paul Scherrer Institut (PSI). 2023. Dostupné z: <https://www.psi.ch/en/lac/aerosol-mass-spectrometers>. [cit. 2024-02-05].
- [20] CHEN, Yunle; TAKEUCHI, Masayuki; NAH, Theodora; XU, Lu; CANAGARATNA, Manjula et al. Chemical characterization of secondary organic aerosol at a rural site in the southeastern US: insights from simultaneous high-resolution time-of-flight aerosol mass spectrometer (HR-ToF-AMS) and FIGAERO chemical ionization mass spectrometer (CIMS) measurements. online. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2020, roč. 20, č. 14, s. 8421-8440. ISSN 1680-7324. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/acp-20-8421-2020>. [cit. 2024-02-05].
- [21] KHLYSTOV, A. The steam-jet aerosol collector. online. *Atmospheric Environment*. 1995, roč. 29, č. 17, s. 2229-2234. ISSN 13522310. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/1352-2310\(95\)00180-7](https://doi.org/10.1016/1352-2310(95)00180-7). [cit. 2024-03-19].
- [22] ORSINI, Douglas; MA, Yilin; SULLIVAN, Amy; SIERAU, Berko; BAUMANN, Karsten et al. Refinements to the particle-into-liquid sampler (PILS) for ground and airborne measurements of water soluble aerosol composition. online. *Atmospheric Environment*. 2003, roč. 37, č. 9-10, s. 1243-1259. ISSN 13522310. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(02\)01015-4](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(02)01015-4). [cit. 2024-03-19].
- [23] MIKUŠKA, Pavel; ČAPKA, Lukáš a VEČEŘA, Zbyněk. Aerosol sampler for analysis of fine and ultrafine aerosols. online. *Analytica Chimica Acta*. 2018, roč. 1020, s. 123-133. ISSN 00032670. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.070>. [cit. 2024-03-19].
- [24] ČAPKA, Lukáš; MIKUŠKA, Pavel a KŘŮMAL, Kamil. Determination of dicarboxylic acids in atmospheric aerosols using continuous aerosol sampler with on-line connected ion chromatography system. online. *Atmospheric Environment*. 2020, roč. 222. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.117178>. [cit. 2024-03-19].

- [25] ALEXA, Lukáš a MIKUŠKA, Pavel. Simultaneous Determination of Gaseous Ammonia and Particulate Ammonium in Ambient Air Using a Cylindrical Wet Effluent Diffusion Denuder and a Continuous Aerosol Sampler. online. *Analytical Chemistry*. 2020, roč. 92, č. 24, s. 15827-15836. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c03037>. [cit. 2024-03-19].
- [26] MOORE, Frances. Climate Change and Air Pollution: Exploring the Synergies and Potential for Mitigation in Industrializing Countries. online. *Sustainability*. 2009, roč. 1, č. 1, s. 43-54. ISSN 2071-1050. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/su1010043>. [cit. 2023-11-25].
- [27] CHEN, Tze-Ming; KUSCHNER, Ware; GOKHALE, Janaki a SHOFER, Scott. Outdoor Air Pollution: Nitrogen Dioxide, Sulfur Dioxide, and Carbon Monoxide Health Effects. online. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2007, roč. 333, č. 4, s. 249-256. ISSN 00029629. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31803b900f>. [cit. 2023-11-25].
- [28] HARMENS, Harry; MILLS, Gina; HAYES, Felicity a NORRIS, David. *Air pollution and vegetation: ICP Vegetation annual report 2010/2011*. online. UK: NERC/Centre for Ecology & Hydrology, 2011. Dostupné z: [https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:4BuJoiYLROkJ:scholar.google.com/&hl=cs&as\\_sdt=0,5](https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:4BuJoiYLROkJ:scholar.google.com/&hl=cs&as_sdt=0,5). [cit. 2023-11-25].
- [29] MANISALIDIS, Ioannis; STAVROPOULOU, Elisavet; STAVROPOULOS, Agathangelos a BEZIRTZOGLU, Eugenia. Environmental and Health Impacts of Air Pollution: A Review. online. *Frontiers in Public Health*. 2020, roč. 8. ISSN 2296-2565. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00014>. [cit. 2023-11-25].
- [30] SAHU, Devashri; KANNAN, G. a VIJAYARAGHAVAN, R. Carbon Black Particle Exhibits Size Dependent Toxicity in Human Monocytes. online. *International Journal of Inflammation*. 2014, roč. 2014, s. 1-10. ISSN 2090-8040. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2014/827019>. [cit. 2023-11-25].
- [31] FRANKLIN, Meredith; KOUTRAKIS, Petros a SCHWARTZ, Joel. The Role of Particle Composition on the Association Between PM<sub>2.5</sub> and Mortality. online. *Epidemiology*. 2008, roč. 19, č. 5, s. 680-689. ISSN 1044-3983. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181812bb7>. [cit. 2024-02-07].
- [32] LIU, Cong; CHEN, Renjie; SERA, Francesco; VICEDO-CABRERA, Ana; GUO, Yuming et al. Ambient Particulate Air Pollution and Daily Mortality in 652 Cities. online. *New England Journal of Medicine*. 2019, roč. 381, č. 8, s. 705-715. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1817364>. [cit. 2024-02-07].

- [33] POPE III, C.; BURNETT, Richard; THUN, Michael; CALLE, Eugenia; KREWSKI, Daniel et al. Lung Cancer, Cardiopulmonary Mortality, and Long-term Exposure to Fine Particulate Air Pollution. online. *JAMA*. 2002, roč. 287, č. 9. ISSN 0098-7484. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/jama.287.9.1132>. [cit. 2024-05-17].
- [34] CALDERÓN-GARCIDUEÑAS, Lilian; SOLT, Anna; HENRÍQUEZ-ROLDÁN, Carlos; TORRES-JARDÓN, Ricardo; NUSE, Bryan et al. Long-term Air Pollution Exposure Is Associated with Neuroinflammation, an Altered Innate Immune Response, Disruption of the Blood-Brain Barrier, Ultrafine Particulate Deposition, and Accumulation of Amyloid  $\beta$ -42 and  $\alpha$ -Synuclein in Children and Young Adults. online. *Toxicologic Pathology*. 2008, roč. 36, č. 2, s. 289-310. ISSN 0192-6233. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/0192623307313011>. [cit. 2023-11-25].
- [35] GHORANI-AZAM, Adel; RIAHI-ZANJANI, Bamdad a BALALI-MOOD, Mahdi. Effects of air pollution on human health and practical measures for prevention in Iran. online. *Journal of Research in Medical Sciences*. 2016, roč. 21, č. 1. ISSN 1735-1995. Dostupné z: <https://doi.org/10.4103/1735-1995.189646>. [cit. 2023-11-25].
- [36] *Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution*. online. Denmark: World Health Organization, 2007. ISBN 9789289071796. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/i/item/9789289071796>. [cit. 2023-11-25].
- [37] MAKUCH-PIETRAŚ, Iwona; GRABEK-LEJKO, Dorota; GÓRKA, Anna a KASPRZYK, Idalia. Antioxidant activities in relation to the transport of heavy metals from the soil to different parts of *Betula pendula* (Roth.). online. *Journal of Biological Engineering*. 2023, roč. 17, č. 1. ISSN 1754-1611. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13036-022-00322-8>. [cit. 2023-11-30].
- [38] JAN, Arif; AZAM, Mudsser; SIDDIQUI, Kehkashan; ALI, Arif; CHOI, Inho et al. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, roč. 16, č. 12, s. 29592-29630. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms161226183>. [cit. 2024-03-19].
- [39] AHSAN, Syed; LACKOVIC, Michelle; KATNER, Adrienne a PALERMO, Christine. Metal Fume Fever: A Review of the Literature and Cases Reported to the Louisiana Poison Control Center. online. *Journal of the Louisiana State Medical Society*. 2009, roč. 161, č. 6, s. 348-351. ISSN 2831-8668. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20108830/>. [cit. 2023-11-27].
- [40] RAHMAN, Zeeshanur a SINGH, Ved. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury

- (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. online. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2019, roč. 191, č. 7. ISSN 0167-6369. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7528-7>. [cit. 2023-11-25].
- [41] ABBASI, Saeed; JANSSON, Anders; SELLGREN, Ulf a OLOFSSON, Ulf. Particle Emissions From Rail Traffic: A Literature Review. online. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2013, roč. 43, č. 23, s. 2511-2544. ISSN 1064-3389. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10643389.2012.685348>. [cit. 2024-02-07].
- [42] KIANOUSH, Sina; BALALI-MOOD, Mahdi; MOUSAVI, Seyed; SHAKERI, Mohammad; DADPOUR, Bitra et al. Clinical, Toxicological, Biochemical, and Hematologic Parameters in Lead Exposed Workers of a Car Battery Industry. online. *Iran Journal of Medical Sciences*. 2013, roč. 38, č. 1, s. 30-37. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3642942/>. [cit. 2023-11-25].
- [43] ELINDER, Carl-Gustaf; KJELLSTRÖM, Tord; FRIBERG, Lars a LINNMAN, Birger. Cadmium in Kidney Cortex, Liver, and Pancreas from Swedish Autopsies. online. *Archives of Environmental Health: An International Journal*. 1976, roč. 31, č. 6, s. 292-302. ISSN 0003-9896. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00039896.1976.10667239>. [cit. 2024-02-07].
- [44] WILLIAMS, C. a HARRISON, R. Cadmium in the atmosphere. online. *Experientia*. 1984, roč. 40, č. 1, s. 29-36. ISSN 0014-4754. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01959099>. [cit. 2024-02-07].
- [45] JAISHANKAR, Monisha; TSETEN, Tenzin; ANBALAGAN, Naresh; MATHEW, Blessy a BEEREGOWDA, Krishnamurthy. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. online. *Interdisciplinary Toxicology*. 2014, roč. 7, č. 2, s. 60-72. ISSN 1337-9569. Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>. [cit. 2023-11-26].
- [46] HUGHES, JAMES; POLISSAR, LINCOLN a VAN BELLE, GERALD. Evaluation and Synthesis of Health Effects Studies of Communities Surrounding Arsenic Producing Industries. online. *International Journal of Epidemiology*. 1988, roč. 17, č. 2, s. 407-413. ISSN 0300-5771. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ije/17.2.407>. [cit. 2023-11-26].
- [47] MAUD, J. a RUMSBY, P. *A review of the toxicity of arsenic in air*. online. UK: Environment Agency, 2008. ISBN 978-1-84432-912-0. Dostupné z: <https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7c7eebed915d6969f45475/sch00508bodr-e-e.pdf>. [cit. 2024-02-07].
- [48] SINGH, Nrashant; KUMAR, Deepak a SAHU, Anand. Arsenic in the environment: effects on human health and possible prevention. online. *Academy*

- of Environmental Biology India*. 2007, roč. 28, č. 2, s. 359-365. ISSN 2394-0379. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17929751/>. [cit. 2023-11-26].
- [49] GORDON, J. a QUASTEL, J. Effects of organic arsenicals on enzyme systems. online. *The Biochemical journal*. 1948, roč. 42, s. 337-350. ISSN 1470-8728. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16748292/>. [cit. 2023-11-26].
- [50] VINCENT, John B. Chromium: Is It Essential, Pharmacologically Relevant, or Toxic?. online. *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases*. Metal Ions in Life Sciences. 2013, s. 171-198. ISBN 978-94-007-7499-5. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-94-007-7500-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-007-7500-8_6). [cit. 2024-02-07].
- [51] GHANI, Abdul. Effect of chromium toxicity on growth, chlorophyll and some mineral nutrients of brassica juncea L. online. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*. 2011, roč. 2, č. 1, s. 9-15. ISSN 2090-0813. Dostupné z: [https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:NwymloFwJjUJ:scholar.google.com/&hl=cs&as\\_sdt=0,5](https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:NwymloFwJjUJ:scholar.google.com/&hl=cs&as_sdt=0,5). [cit. 2023-11-26].
- [52] WILBUR, S.; ABADIN, H. a FAY, M. Toxicological Profile for Chromium. online. In: *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*. USA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK158851/>. [cit. 2023-11-26].
- [53] GUPTA, Nidhi; GAURAV, Shailendra a KUMAR, Ashwani. Molecular Basis of Aluminium Toxicity in Plants: A Review. online. *American Journal of Plant Sciences*. 2013, roč. 04, č. 12, s. 21-37. ISSN 2158-2742. Dostupné z: <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.412A3004>. [cit. 2023-11-26].
- [54] BARABASH, W.; ALBINSKA, D. a JASKOWSKA, M. Ecotoxicology of aluminium. online. *Polish journal of environmental studies*. 2002, roč. 11, č. 3, s. 199-204. Dostupné z: [https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ErI4QjdKQZsJ:scholar.google.com/&hl=cs&as\\_sdt=0,5](https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ErI4QjdKQZsJ:scholar.google.com/&hl=cs&as_sdt=0,5). [cit. 2023-11-26].
- [55] VUORI, Kari-Matti. Direct and indirect effects of iron on river ecosystems. online. *JSTOR*. 1995, roč. 32, č. 3, s. 317-329. ISSN 0003-455X. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/23735702>. [cit. 2023-11-26].
- [56] GRAZULEVICIENE, R.; NADISAUSKIENE, R.; BUINAUSKIENE, J. a GRAZULEVICIUS, T. Effects of Elevated Levels of Manganese and Iron in Drinking Water on Birth Outcomes. online. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2009, roč. 18, č. 5, s. 819–825. ISSN 2083-5906. Dostupné z: <http://www.pjoes.com/Effects-of-Elevated-Levels-of-Manganese-and-Iron-rin-Drinking-Water-on-Birth-Outcomes,88299,0,2.html>. [cit. 2023-11-26].

- [57] GHIO, Andrew; SOUKUP, Joleen; DAILEY, Lisa a MADDEN, Michael. Air pollutants disrupt iron homeostasis to impact oxidant generation, biological effects, and tissue injury. online. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020, roč. 151, s. 38-55. ISSN 08915849. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.007>. [cit. 2023-11-27].
- [58] KARAMI, Mohammad; EBRAHIMZADEH, Mohammad; MOHAMMAD, Mohammad a KAZEMI, A. Effect of Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> ions on human plasma cholinesterase activity. online. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2010, roč. 14, č. 10, s. 897-901. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/49743893\\_Effect\\_of\\_Fe2and\\_Fe3\\_ions\\_on\\_human\\_plasma\\_cholinesterase\\_activity](https://www.researchgate.net/publication/49743893_Effect_of_Fe2and_Fe3_ions_on_human_plasma_cholinesterase_activity). [cit. 2023-11-27].
- [59] LERTSUWAN, Kornkamon; NAMMULTRIPUTTAR, Ketsaraporn; NANTHAWUTTIPIHAN, Supanan; TANNOP, Natnicha; TEERAPORN PUNTAKIT, Jarinthorn et al. Differential effects of Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> on osteoblasts and the effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, deferiprone and extracellular calcium on osteoblast viability under iron-overloaded conditions. online. *PLOS ONE*. 2020, roč. 15, č. 5. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234009>. [cit. 2023-11-27].
- [60] WILLIAMS, M.; TODD, G.D. a RONEY, N. Toxicological Profile for Manganese. online. In: *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*. USA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK158868/>. [cit. 2023-11-26].
- [61] ANKE, M.; GROPPPEL, B.; KRONEMANN, H. a GRÜN, M. Nickel--an essential element. online. 1984, roč. 53, s. 339-365. [cit. 2024-02-07].
- [62] GENCHI, Giuseppe; CAROCCI, Alessia; LAURIA, Graziantonio; SINICROPI, Maria a CATALANO, Alessia. Nickel: Human Health and Environmental Toxicology. online. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020, roč. 17, č. 3. ISSN 1660-4601. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijerph17030679>. [cit. 2023-11-27].
- [63] SEILKOP, Steven a OLLER, Adriana. Respiratory cancer risks associated with low-level nickel exposure: an integrated assessment based on animal, epidemiological, and mechanistic data. online. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2003, roč. 37, č. 2, s. 173-190. ISSN 02732300. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0273-2300\(02\)00029-6](https://doi.org/10.1016/S0273-2300(02)00029-6). [cit. 2023-11-27].
- [64] ROJAS-LEMUS, Marcela; LÓPEZ-VALDEZ, Nelly; BIZARRO-NEVARES, Patricia; GONZÁLEZ-VILLALVA, Adriana; USTARROZ-CANO, Martha et al. Toxic Effects of Inhaled Vanadium Attached to Particulate Matter: A Literature Review. online. *International Journal of Environmental Research*

- and Public Health*. 2021, roč. 18, č. 16. ISSN 1660-4601. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijerph18168457>. [cit. 2023-11-27].
- [65] DESHPANDE, Jayant; JOSHI, Mohini a GIRI, Purushottam. Zinc: The trace element of major importance in human nutrition and health. online. *International Journal of Medical Science and Public Health*. 2013, roč. 2, č. 1. ISSN 2320-4664. Dostupné z: <https://doi.org/10.5455/ijmsph.2013.2.1-6>. [cit. 2024-02-07].
- [66] ATHANASSIADIS, Yannis C. *Air Pollution Aspects of Zinc and its Compounds*. online. USA: U.S. Environmental Protection Agency, 1969. ISBN 978-1249418740. [cit. 2023-11-27].
- [67] CHEN, Bo-chiuan; LUO, Juhua a HENDRYX, Michael. Zinc compound air releases from Toxics Release Inventory facilities and cardiovascular disease mortality rates. online. *Environmental Research*. 2015, roč. 142, s. 96-103. ISSN 00139351. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.022>. [cit. 2023-11-27].
- [68] DOMINGO, Jose L. Cobalt in the Environment and Its Toxicological Implications. online. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 1989, s. 105-132. ISBN 978-1-4613-8852-4. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8850-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8850-0_3). [cit. 2023-11-27].
- [69] LIU, Xinyi; WANG, Xiaoning; TIAN, Yingze a FENG, Yinchang. Inhalation bioaccessibility and risk assessment for PM-bound organic components: Co-effects of component physicochemical properties, PM properties, and sources. online. 2023, roč. 459. ISSN 03043894. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132291>. [cit. 2023-11-27].
- [70] HADDRELL, ; CHURCH, Tanya; VEHRING, ; MURNANE, Darragh a REID, Jonathan. Pulmonary aerosol delivery and the importance of growth dynamics. online. *Therapeutic Delivery*. 2017, roč. 8, č. 12, s. 1051-1061. ISSN 2041-5990. Dostupné z: <https://doi.org/10.4155/tde-2017-0093>. [cit. 2023-11-27].
- [71] *Bioavailability of Contaminants in Soils and Sediments: Processes, tools and applications*. online. USA: The national academic Press, 2003. ISBN 0-309-08625-6. Dostupné z: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/10523/bioavailability-of-contaminants-in-soils-and-sediments-processes-tools-and>. [cit. 2023-11-28].
- [72] KASTURY, Farzana; SMITH, E.; KARNA, Ranju; SCHECKEL, Kirk a JUHASZ, A.L. An inhalation-ingestion bioaccessibility assay (IIBA) for the assessment of exposure to metal(loid)s in PM10. online. *Science of The Total*

- Environment*. 2018, roč. 631-632, s. 92-104. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.337>. [cit. 2023-11-28].
- [73] KASTURY, Farzana; SMITH, Euan a JUHASZ, Albert. A critical review of approaches and limitations of inhalation bioavailability and bioaccessibility of metal(loid)s from ambient particulate matter or dust. online. *Science of The Total Environment*. 2017, roč. 574, s. 1054-1074. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.056>. [cit. 2023-08-21].
- [74] DAMON, E.; EIDSON, A.; HAHN, F.; GRIFFITH, W. a GUILMETTE, R. Comparison of Early Lung Clearance of Yellowcake Aerosols in Rats With in Vitro Dissolution and IR Analysis. online. *Health Physics*. 1984, roč. 46, č. 4, s. 859-866. ISSN 0017-9078. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00004032-198404000-00011>. [cit. 2023-11-28].
- [75] CAMPEN, M. J. Cardiovascular and Thermoregulatory Effects of Inhaled PM-Associated Transition Metals: A Potential Interaction between Nickel and Vanadium Sulfate. online. *Toxicological Sciences*. roč. 64, č. 2, s. 243-252. ISSN 10960929. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/toxsci/64.2.243>. [cit. 2023-11-28].
- [76] KILLINGSWORTH, Cheryl; ALESSANDRINI, Francesca; MURTHY, G.; CATALANO, Paul; PAULAUSKIS, Joseph et al. INFLAMMATION, CHEMOKINE EXPRESSION, AND DEATH IN MONOCROTALINE-TREATED RATS FOLLOWING FUEL OIL FLY ASH INHALATION. online. *Inhalation Toxicology*. roč. 9, č. 6, s. 541-565. ISSN 10917691. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/089583797198060>. [cit. 2024-02-13].
- [77] KADIISKA, Maria; MASON, Ronald; DREHER, Kevin; COSTA, Daniel a GHIO, Andrew. In Vivo Evidence of Free Radical Formation in the Rat Lung after Exposure to an Emission Source Air Pollution Particle. online. *Chemical Research in Toxicology*. 1997, roč. 10, č. 10, s. 1104-1108. ISSN 0893-228X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/tx970049r>. [cit. 2024-02-13].
- [78] WATKINSON, William a GORDON, Christopher. Caveats regarding the use of the laboratory rat as a model for acute toxicological studies: modulation of the toxic response via physiological and behavioral mechanisms. online. *Toxicology*. 1993, roč. 81, č. 1, s. 15-31. ISSN 0300483X. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(93\)90153-J](https://doi.org/10.1016/0300-483X(93)90153-J). [cit. 2024-02-13].
- [79] ODEH, Dyana; ORŠOLIĆ, Nada; ADROVIĆ, Emanuela; GAĆINA, Lydia; PERIĆ, Petra et al. Effects of Volatile Anaesthetics and Iron Dextran on Chronic Inflammation and Antioxidant Defense System in Rats. online. *Antioxidants*. 2022, roč. 11, č. 4. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11040708>. [cit. 2024-03-19].

- [80] ÁLVAREZ-OLGUÍN, Miguel; BELTRÁN-BARRIENTOS, Lilia; HERNANDEZ-MENDOZA, Adrian; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, Aarón a VALLEJO-CORDOBA, Belinda. Current trends and perspectives on bioaccessibility and bioavailability of food bioactive peptides: in vitro and ex vivo studies. online. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2022, roč. 102, č. 15, s. 6824-6834. ISSN 0022-5142. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jsfa.12077>. [cit. 2024-02-09].
- [81] BAKAND, S.; WINDER, C.; KHALIL, C. a HAYES, A. Toxicity Assessment of Industrial Chemicals and Airborne Contaminants: Transition from In Vivo to In Vitro Test Methods. online. *Inhalation Toxicology*. 2008, roč. 17, č. 13, s. 775-787. ISSN 0895-8378. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/08958370500225240>. [cit. 2023-11-28].
- [82] DRISCOLL, K. E. Intratracheal Instillation as an Exposure Technique for the Evaluation of Respiratory Tract Toxicity: Uses and Limitations. online. *Toxicological Sciences*. 2000, roč. 55, č. 1, s. 24-35. ISSN 10960929. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/toxsci/55.1.24>. [cit. 2023-11-28].
- [83] GRAY, Deborah; WALLACE, Lance; BRINKMAN, Marielle; BUEHLER, Stephanie a LA LONDE, Chris. Respiratory and Cardiovascular Effects of Metals in Ambient Particulate Matter: A Critical Review. online. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. 2015, s. 135-203. ISBN 978-3-319-10637-3. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-10638-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-10638-0_3). [cit. 2023-11-28].
- [84] NEMMAR, Abderrahim; HOLME, Jørn; ROSAS, Irma; SCHWARZE, Per a ALFARO-MORENO, Ernesto. Recent Advances in Particulate Matter and Nanoparticle Toxicology: A Review of the In Vivo and In Vitro Studies. online. *BioMed Research International*. 2013, roč. 2013, s. 1-22. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2013/279371>. [cit. 2023-11-28].
- [85] CARTER, Jacqueline; GHIO, Andrew; SAMET, James a DEVLIN, Robert. Cytokine Production by Human Airway Epithelial Cells after Exposure to an Air Pollution Particle Is Metal-Dependent. online. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1997, roč. 146, č. 2, s. 180-188. ISSN 0041008X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1006/taap.1997.8254>. [cit. 2023-11-28].
- [86] ABBAS, Imane; SAINT-GEORGES, Françoise; BILLET, Sylvain; VERDIN, Anthony; MULLIEZ, Philippe et al. Air pollution particulate matter (PM2.5)-induced gene expression of volatile organic compound and/or polycyclic aromatic hydrocarbon-metabolizing enzymes in an in vitro coculture lung model. online. *Toxicology in Vitro*. 2009, roč. 23, č. 1, s. 37-46. ISSN 08872333. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2008.09.020>. [cit. 2023-11-28].

- [87] KONDO, Kazuya; TAKAHASHI, Yuji; ISHIKAWA, Sumiyo; UCHIHARA, Hiroshi; HIROSE, Yukiko et al. Microscopic analysis of chromium accumulation in the bronchi and lung of chromate workers. online. *Cancer*. 2003, roč. 98, č. 11, s. 2420-2429. ISSN 0008-543X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cncr.11818>. [cit. 2023-11-28].
- [88] BRANDENBERGER, C.; ROTHEN-RUTISHAUSER, B.; MÜHLFELD, C.; SCHMID, O.; FERRON, G.A. et al. Effects and uptake of gold nanoparticles deposited at the air-liquid interface of a human epithelial airway model. online. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010, roč. 242, č. 1, s. 56-65. ISSN 0041008X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.09.014>. [cit. 2023-11-28].
- [89] WRAGG, J. a CAVE, M.R. *In-vitro Methods for the Measurement of the Oral Bioaccessibility of Selected Metals and Metalloids in Soils: A Critical Review*. online. Great Britain: Environment Agency, 2003. ISBN 1 857 059 867. Dostupné z: [https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:EkfBsmxNAo8J:scholar.google.com/&hl=cs&as\\_sdt=0,5](https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:EkfBsmxNAo8J:scholar.google.com/&hl=cs&as_sdt=0,5). [cit. 2023-11-28].
- [90] HE, Linchen a ZHANG, Junfeng. Particulate matter (PM) oxidative potential: Measurement methods and links to PM physicochemical characteristics and health effects. online. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2023, roč. 53, č. 2, s. 177-197. ISSN 1064-3389. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10643389.2022.2050148>. [cit. 2023-11-29].
- [91] KELLY, Frank a FUSSELL, Julia. Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. online. *Atmospheric Environment*. 2012, roč. 60, s. 504-526. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.039>. [cit. 2023-11-29].
- [92] GOLDSMITH, C.; FREVERT, C.; IMRICH, A.; SIOUTAS, C. a KOBZIK, L. Alveolar macrophage interaction with air pollution particulates. online. *Environmental Health Perspectives*. 1997, roč. 105, č. 5, s. 1191-1195. ISSN 0091-6765. Dostupné z: <https://doi.org/10.1289/ehp.97105s51191>. [cit. 2023-11-29].
- [93] BATES, Josephine; WEBER, Rodney; ABRAMS, Joseph; VERMA, Vishal; FANG, Ting et al. Reactive Oxygen Species Generation Linked to Sources of Atmospheric Particulate Matter and Cardiorespiratory Effects. online. 2015, roč. 49, č. 22, s. 13605-13612. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02967>. [cit. 2023-12-01].
- [94] BATES, Josephine; FANG, Ting; VERMA, Vishal; ZENG, Linghan; WEBER, Rodney et al. Review of Acellular Assays of Ambient Particulate Matter Oxidative Potential: Methods and Relationships with Composition, Sources,

- and Health Effects. online. 2019, roč. 53, č. 8, s. 4003-4019. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03430>. [cit. 2023-11-30].
- [95] ANDRÉS, Celia; PÉREZ DE LA LASTRA, José; ANDRÉS JUAN, Celia; PLOU, Francisco a PÉREZ-LEBEÑA, Eduardo. Superoxide Anion Chemistry—Its Role at the Core of the Innate Immunity. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, roč. 24, č. 3. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms24031841>. [cit. 2023-11-29].
- [96] MURPHY, Michael; BAYIR, Hülya; BELOUSOV, Vsevolod; CHANG, Christopher; DAVIES, Kelvin et al. Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. online. *Nature Metabolism*. 2022, roč. 4, č. 6, s. 651-662. ISSN 2522-5812. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00591-z>. [cit. 2023-11-29].
- [97] BARDAWEEL, Sanaa; GUL, Mustafa; ALZWEIRI, Muhammad; ISHAQAT, Aman; ALSALAMAT, Husam et al. Reactive Oxygen Species: the Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body. online. *The Eurasian Journal of Medicine*. 2018, roč. 50, č. 3, s. 193-201. ISSN 13088734. Dostupné z: <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2018.17397>. [cit. 2023-11-29].
- [98] SIES, Helmut a JONES, Dean. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. online. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2020, roč. 21, č. 7, s. 363-383. ISSN 1471-0072. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>. [cit. 2023-11-29].
- [99] KIM, ; LEE, ; SEO, ; KIM, ; KIM, et al. Cellular Stress Responses in Radiotherapy. online. *Cells*. 2019, roč. 8, č. 9. ISSN 2073-4409. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cells8091105>. [cit. 2024-01-02].
- [100] SCHIEBER, Michael a CHANDEL, Navdeep S. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. online. *Current Biology*. 2014, roč. 24, č. 10, s. 453-462. ISSN 09609822. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>. [cit. 2023-11-29].
- [101] SHARIFI-RAD, Mehdi; ANIL KUMAR, Nanjangud; ZUCCA, Paolo; VARONI, Elena; DINI, Luciana et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. online. *Frontiers in Physiology*. 2020, roč. 11. ISSN 1664-042X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>. [cit. 2023-11-29].
- [102] BARRERA, Giuseppina. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. online. *ISRN Oncology*. 2012, roč. 2012, s. 1-21. ISSN 2090-567X. Dostupné z: <https://doi.org/10.5402/2012/137289>. [cit. 2023-11-29].

- [103] GHOSH, Arnab a SHCHERBIK, Natalia. Effects of Oxidative Stress on Protein Translation: Implications for Cardiovascular Diseases. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, roč. 21, č. 8. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms21082661>. [cit. 2023-11-29].
- [104] ROWE, Lori; DEGTYAREVA, Natalya a DOETSCH, Paul. DNA damage-induced reactive oxygen species (ROS) stress response in *Saccharomyces cerevisiae*. online. *Free Radical Biology and Medicine*. 2008, roč. 45, č. 8, s. 1167-1177. ISSN 08915849. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.07.018>. [cit. 2023-11-29].
- [105] SHIELDS, Hazel; TRAA, Annika a VAN RAAMSDONK, Jeremy. Beneficial and Detrimental Effects of Reactive Oxygen Species on Lifespan: A Comprehensive Review of Comparative and Experimental Studies. online. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021, roč. 9. ISSN 2296-634X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.628157>. [cit. 2023-11-29].
- [106] LANZAFAME, Francesco; LA VIGNERA, Sandro; VICARI, Enzo a CALOGERO, Aldo. Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. online. *Reproductive BioMedicine Online*. 2009, roč. 19, č. 5, s. 638-659. ISSN 14726483. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2009.09.014>. [cit. 2023-11-29].
- [107] WANG, Yongjin; SHARMA, Rakesh; FALCONE, Tommaso; GOLDBERG, Jeffrey a AGARWAL, Ashok. Importance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. online. *Fertility and Sterility*. 1997, roč. 68, č. 5, s. 826-830. ISSN 00150282. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(97\)00343-9](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(97)00343-9). [cit. 2023-11-29].
- [108] SRINIVAS, Upadhyayula; TAN, Bryce; VELLAYAPPAN, Balamurugan a JEYASEKHARAN, Anand. ROS and the DNA damage response in cancer. online. *Redox Biology*. 2019, roč. 25. ISSN 22132317. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>. [cit. 2023-11-29].
- [109] GERLOFS-NIJLAND, Miriam; TOTLANDSDAL, Annike; TZAMKIOZIS, Theodoros; LESEMAN, Daan; SAMARAS, Zissis et al. Cell Toxicity and Oxidative Potential of Engine Exhaust Particles: Impact of Using Particulate Filter or Biodiesel Fuel Blend. online. 2013, roč. 47, č. 11, s. 5931-5938. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/es305330y>. [cit. 2023-11-30].
- [110] NG, N.; TUET, W.; CHEN, Y.; FOK, S.; GAO, D. et al. Cellular and Acellular Assays for Measuring Oxidative Stress Induced by Ambient and Laboratory-Generated Aerosols. online. *Research Reports: Health Effects Institute*. 2019, roč. 2019, č. 197, s. 1-57. ISSN 2688-6855. [cit. 2023-12-01].

- [111] MURPHY, Michael; BAYIR, Hülya; BELOUSOV, Vsevolod; CHANG, Christopher; DAVIES, Kelvin et al. Temporal variation of oxidative potential of water soluble components of ambient PM<sub>2.5</sub> measured by dithiothreitol (DTT) assay. online. *Nature Metabolism*. 2022, roč. 4, č. 6, s. 651-662. ISSN 2522-5812. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00591-z>. [cit. 2023-11-30].
- [112] CHARRIER, J. a ANASTASIO, C. On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals. online. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2012, roč. 12, č. 19, s. 9321-9333. ISSN 1680-7324. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/acp-12-9321-2012>. [cit. 2023-11-30].
- [113] JIANG, ; AHMED, ; CANCHOLA, ; CHEN, a LIN, . Use of Dithiothreitol Assay to Evaluate the Oxidative Potential of Atmospheric Aerosols. online. *Atmosphere*. 2019, roč. 10, č. 10. ISSN 2073-4433. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/atmos10100571>. [cit. 2023-11-30].
- [114] GAO, Dong; FANG, Ting; VERMA, Vishal; ZENG, Linghan a WEBER, Rodney. A method for measuring total aerosol oxidative potential (OP) with the dithiothreitol (DTT) assay and comparisons between an urban and roadside site of water-soluble and total OP. online. *Atmospheric Measurement Techniques*. 2017, roč. 10, č. 8, s. 2821-2835. ISSN 1867-8548. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/amt-10-2821-2017>. [cit. 2023-12-01].
- [115] KUMAGAI, Yoshito; KOIDE, Sachie; TAGUCHI, Keiko; ENDO, Akiko; NAKAI, Yumi et al. Oxidation of Proximal Protein Sulfhydryls by Phenanthraquinone, a Component of Diesel Exhaust Particles. online. *Chemical Research in Toxicology*. 2002, roč. 15, č. 4, s. 483-489. ISSN 0893-228X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/tx0100993>. [cit. 2023-11-30].
- [116] GAO, Dong; RIPLEY, Susannah; WEICHENTHAL, Scott a GODRI POLLITT, Krystal. Ambient particulate matter oxidative potential: Chemical determinants, associated health effects, and strategies for risk management. online. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020, roč. 151, s. 7-25. ISSN 08915849. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.04.028>. [cit. 2023-12-31].
- [117] BERG, Kathleen; TURNER, Laurelle; BENKA-COKER, Megan; RAJKUMAR, Sarah; YOUNG, Bonnie et al. Electrochemical dithiothreitol assay for large-scale particulate matter studies. online. *Aerosol Science and Technology*. 2019, roč. 53, č. 3, s. 268-275. ISSN 0278-6826. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/02786826.2018.1560391>. [cit. 2023-11-30].
- [118] FANG, Ting; VERMA, Vishal; BATES, Josephine; ABRAMS, Joseph; KLEIN, Mitchel et al. Oxidative potential of ambient water-soluble

- PM<sub>2.5</sub> in the southeastern United States: contrasts in sources and health associations between ascorbic acid (AA) and dithiothreitol (DTT) assays. online. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2016, roč. 16, č. 6, s. 3865-3879. ISSN 1680-7324. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/acp-16-3865-2016>. [cit. 2023-12-31].
- [119] CARLINO, Alessandro; ROMANO, Maria; LIONETTO, Maria; CONTINI, Daniele a GUASCITO, Maria. An Overview of the Automated and On-Line Systems to Assess the Oxidative Potential of Particulate Matter. online. *Atmosphere*. 2023, roč. 14, č. 2. ISSN 2073-4433. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/atmos14020256>. [cit. 2023-12-01].
- [120] JANSSEN, Nicole; YANG, Aileen; STRAK, Maciej; STEENHOF, Maaïke; HELLACK, Bryan et al. Oxidative potential of particulate matter collected at sites with different source characteristics. online. *Science of The Total Environment*. 2014, roč. 472, s. 572-581. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.099>. [cit. 2023-12-01].
- [121] MYTILINEOU, Catherine; KRAMER, Brian a YABUT, Jocelyn. Glutathione depletion and oxidative stress. online. 2002, roč. 8, č. 6, s. 385-387. ISSN 13538020. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(02\)00018-4](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(02)00018-4). [cit. 2023-12-31].
- [122] CHAI, Y.C.; ASHRAF, S.S.; ROKUTAN, K.; JOHNSTON, R.B. a THOMAS, J.A. S-Thiolation of Individual Human Neutrophil Proteins Including Actin by Stimulation of the Respiratory Burst: Evidence against a Role for Glutathione Disulfide. online. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1994, roč. 310, č. 1, s. 273-281. ISSN 00039861. Dostupné z: <https://doi.org/10.1006/abbi.1994.1167>. [cit. 2023-12-31].
- [123] ZITKA, ONDREJ; SKALICKOVA, SYLVIE; GUMULEC, JAROMIR; MASARIK, MICHAL; ADAM, VOJTECH et al. Redox status expressed as GSH: GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. online. *Oncology Letters*. 2012, roč. 4, č. 6, s. 1247-1253. ISSN 1792-1074. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/ol.2012.931>. [cit. 2023-12-31].
- [124] PIETROGRANDE, ; RUSSO, a ZAGATTI, . Review of PM Oxidative Potential Measured with Acellular Assays in Urban and Rural Sites across Italy. online. *Atmosphere*. 2019, roč. 10, č. 10. ISSN 2073-4433. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/atmos10100626>. [cit. 2023-12-01].
- [125] VENKATACHARI, Prasanna; HOPKE, Philip; GROVER, Brett a EATOUGH, Delbert. Measurement of Particle-Bound Reactive Oxygen Species in Rubidoux Aerosols. online. *Journal of Atmospheric Chemistry*. 2005, roč. 50, č. 1, s. 49-58. ISSN 0167-7764. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10874-005-1662-z>. [cit. 2023-12-01].

- [126] LUCAS-ABELLÁN, C.; MERCADER-ROS, M.; ZAFRILLA, M.; FORTEA, M.; GABALDÓN, J. et al. ORAC-Fluorescein Assay To Determine the Oxygen Radical Absorbance Capacity of Resveratrol Complexed in Cyclodextrins. online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, roč. 56, č. 6, s. 2254-2259. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf0731088>. [cit. 2023-12-01].
- [127] LEE, Masaichi-Chang-il. Assessment of oxidative stress and antioxidant property using electron spin resonance (ESR) spectroscopy. online. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2013, roč. 52, č. 1, s. 1-8. ISSN 0912-0009. Dostupné z: <https://doi.org/10.3164/jcfn.12-58>. [cit. 2023-12-01].
- [128] D'ERRICO, Gerardino; VITIELLO, Giuseppe; DE TOMMASO, Gaetano; ABDEL-GAWAD, Fagr; BRUNDO, Maria et al. Electron Spin Resonance (ESR) for the study of Reactive Oxygen Species (ROS) on the isolated frog skin (*Pelophylax bergeri*): A non-invasive method for environmental monitoring. online. *Environmental Research*. 2018, roč. 165, s. 11-18. ISSN 00139351. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.03.044>. [cit. 2023-12-01].
- [129] CAMPBELL, Steven; UTINGER, Battist; LIENHARD, Daniel; PAULSON, Suzanne; SHEN, Jiaqi et al. Development of a Physiologically Relevant Online Chemical Assay To Quantify Aerosol Oxidative Potential. online. *Analytical Chemistry*. 2019, roč. 91, č. 20, s. 13088-13095. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03282>. [cit. 2024-03-19].
- [130] VENKATACHARI, Prasanna a HOPKE, Philip. Development and Laboratory Testing of an Automated Monitor for the Measurement of Atmospheric Particle-Bound Reactive Oxygen Species (ROS). online. *Aerosol Science and Technology*. 2008, roč. 42, č. 8, s. 629-635. ISSN 0278-6826. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/02786820802227345>. [cit. 2023-12-31].
- [131] SAMEENOI, Yupaporn; KOEHLER, Kirsten; SHAPIRO, Jeff; BOONSONG, Kanokporn; SUN, Yele et al. Microfluidic Electrochemical Sensor for On-Line Monitoring of Aerosol Oxidative Activity. online. *Journal of the American Chemical Society*. 2012, roč. 134, č. 25, s. 10562-10568. ISSN 0002-7863. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ja3031104>. [cit. 2023-12-31].
- [132] SAMEENOI, Yupaporn; PANYMEESAMER, Pantila; SUPALAKORN, Natcha; KOEHLER, Kirsten; CHAILAPAKUL, Orawon et al. Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Aerosol Oxidative Activity. online. 2013, roč. 47, č. 2, s. 932-940. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/es304662w>. [cit. 2023-12-31].
- [133] EIGUREN-FERNANDEZ, Arantzazu; KREISBERG, Nathan a HERING, Susanne. An online monitor of the oxidative capacity of aerosols (o-MOCA). online. *Atmospheric Measurement Techniques*. 2017, roč. 10, č. 2, s. 633-644.

- ISSN 1867-8548. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/amt-10-633-2017>. [cit. 2023-12-31].
- [134] INNES, Emma; YIU, Humphrey; MCLEAN, Polly; BROWN, William a BOYLES, Matthew. Simulated biological fluids – a systematic review of their biological relevance and use in relation to inhalation toxicology of particles and fibres. online. *Critical Reviews in Toxicology*. 2021, roč. 51, č. 3, s. 217-248. ISSN 1040-8444. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408444.2021.1903386>. [cit. 2023-12-22].
- [135] ROSSI, Giulio; CAVAZZA, Alberto; SPAGNOLO, Paolo; BELLAFFIORE, Salvatore; KUHN, Elisabetta et al. The role of macrophages in interstitial lung diseases. online. *European Respiratory Review*. 2017, roč. 26, č. 145. ISSN 0905-9180. Dostupné z: <https://doi.org/10.1183/16000617.0009-2017>. [cit. 2023-12-22].
- [136] NG, Amelia; BIDANI, Akhil a HEMING, Thomas. Innate Host Defense of the Lung: Effects of Lung-lining Fluid pH. online. *Lung*. 2004, roč. 182, č. 5, s. 297-317. ISSN 0341-2040. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00408-004-2511-6>. [cit. 2023-12-22].
- [137] HATCH, G. E. Comparative Biochemistry of Airway Lining Fluid. online. *Comparative Biology of the Normal Lung*. 2015, s. 793-794. ISBN 9780124045774. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404577-4.15011-8>. [cit. 2023-12-22].
- [138] MARQUES, Margareth; LOEBENBERG, Raimar a ALMUKAINZI, May. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. online. *Dissolution Technologies*. 2011, roč. 18, č. 3, s. 15-28. ISSN 1521298X. Dostupné z: <https://doi.org/10.14227/DT180311P15>. [cit. 2023-12-22].
- [139] BIRMILI, Wolfram; ALLEN, Andrew; BARY, Frederic a HARRISON, Roy. Trace Metal Concentrations and Water Solubility in Size-Fractionated Atmospheric Particles and Influence of Road Traffic. online. 2006, roč. 40, č. 4, s. 1144-1153. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/es0486925>. [cit. 2023-12-22].
- [140] ARTELT, S; KOCK, H; NACHTIGALL, D a HEINRICH, U. Bioavailability of platinum emitted from automobile exhaust. online. *Toxicology Letters*. 1998, roč. 96-97, s. 163-167. ISSN 03784274. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(98\)00064-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(98)00064-2). [cit. 2023-12-22].
- [141] TOMAŠEK, Ines; DAMBY, David; STEWART, Carol; HORWELL, Claire; PLUMLEE, Geoff et al. Development of a simulated lung fluid leaching method to assess the release of potentially toxic elements from volcanic ash.

- online. *Chemosphere*. 2021, roč. 278. ISSN 00456535. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130303>. [cit. 2023-12-24].
- [142] DENNIS, Nancy; BLAUER, Mark a KENT, Jacqueline. Dissolution Fractions and Half-times of Single Source Yellowcake in Simulated Lung Fluids. online. *Health Physics*. 1982, roč. 42, č. 4, s. 469-477. ISSN 0017-9078. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00004032-198204000-00007>. [cit. 2023-12-24].
- [143] BERLINGER, Balázs; ELLINGSEN, Dag; NÁRAY, Miklós; ZÁRAY, Gyula a THOMASSEN, Yngvar. A study of the bio-accessibility of welding fumes. online. *Journal of Environmental Monitoring*. 2008, roč. 10, č. 12. ISSN 1464-0325. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/b806631k>. [cit. 2023-12-24].
- [144] MORROW, P.E.; GIBB, F.R.; DAVIES, H. a FISHER, M. Dust removal from the lung parenchyma: an investigation of clearance stimulants. online. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1968, roč. 12, č. 3, s. 372-396. ISSN 0041008X. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(68\)90146-4](https://doi.org/10.1016/0041-008X(68)90146-4). [cit. 2023-12-24].
- [145] TWINING, John; MCGLINN, Peter; LOI, Elaine; SMITH, Kath a GIERÉ, Reto. Risk Ranking of Bioaccessible Metals from Fly Ash Dissolved in Simulated Lung and Gut Fluids. online. 2005, roč. 39, č. 19, s. 7749-7756. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/es0502369>. [cit. 2023-12-24].
- [146] BOISA, Ndokiari; ELOM, Nwabueze; DEAN, John; DEARY, Michael; BIRD, Graham et al. Development and application of an inhalation bioaccessibility method (IBM) for lead in the PM10 size fraction of soil. online. *Environment International*. 2014, roč. 70, s. 132-142. ISSN 01604120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.021>. [cit. 2023-12-24].
- [147] KANAPILLY, G.; RAABE, O.; GOH, C. a CHIMENTI, R. Measurement of in Vitro Dissolution of Aerosol Particles for Comparison to in Vivo Dissolution in the Lower Respiratory Tract after Inhalation. online. *Health Physics*. 1973, roč. 24, č. 5, s. 497-507. ISSN 0017-9078. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00004032-197305000-00004>. [cit. 2023-12-24].
- [148] EIDSON, Arthur a MEWHINNEY, James. In vitro solubility of yellowcake samples from four uranium mills and the implications for bioassay interpretation. online. *Health Physics*. 1980, roč. 39, č. 6, s. 893-902. ISSN 00179078. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0019277310&origin=inward&txGid=00ca5bb575b62477c31cd0fb198422e7>. [cit. 2023-12-24].
- [149] HAMMER, Stine; ERVIK, Torunn; ELLINGSEN, Dag; THOMASSEN, Yngvar; WEINBRUCH, Stephan et al. Particle characterisation and

- bioaccessibility of manganese in particulate matter in silico- and ferromanganese smelters. online. 2021, roč. 23, č. 10, s. 1488-1499. ISSN 2050-7887. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D1EM00243K>. [cit. 2023-12-25].
- [150] ANSOBORLO, E.; HENGÉ-NAPOLI, M.; CHAZEL, V.; GIBERT, R. a GUILMETTE, R. Review and Critical Analysis of Available In Vitro Dissolution Tests. online. *Health Physics*. 1999, roč. 77, č. 6, s. 638-645. ISSN 0017-9078. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00004032-199912000-00007>. [cit. 2023-12-24].
- [151] TAKAYA, Mitsutoshi; SHINOHARA, Yasushi; SERITA, Fumio; ONO-OGASAWARA, Mariko; OTAKI, Noriko et al. Dissolution of Functional Materials and Rare Earth Oxides into Pseudo Alveolar Fluid. online. *Industrial Health*. 2006, roč. 44, č. 4, s. 639-644. ISSN 0019-8366. Dostupné z: <https://doi.org/10.2486/indhealth.44.639>. [cit. 2023-12-24].
- [152] GULDBERG, M. Measurement of in- vitro fibre dissolution rate at acidic pH. online. *The Annals of Occupational Hygiene*. 1998, roč. 42, č. 4, s. 233-243. ISSN 00034878. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0003-4878\(98\)00026-X](https://doi.org/10.1016/S0003-4878(98)00026-X). [cit. 2023-12-24].
- [153] DAVIES, Neal a FEDDAH, Majid. A novel method for assessing dissolution of aerosol inhaler products. online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003, roč. 255, č. 1-2, s. 175-187. ISSN 03785173. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00091-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00091-7). [cit. 2023-12-25].
- [154] HASEGAWA, S.; ICHIYAMA, T.; SONAKA, I.; OHSAKI, A.; OKADA, S. et al. Cysteine, histidine and glycine exhibit anti-inflammatory effects in human coronary arterial endothelial cells. online. *Clinical and Experimental Immunology*. 2012, roč. 167, č. 2, s. 269-274. ISSN 0009-9104. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04519.x>. [cit. 2023-12-25].
- [155] GUPTA, Vivek a AHSAN, Fakhrul. Influence of PEI as a core modifying agent on PLGA microspheres of PGE1, a pulmonary selective vasodilator. online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, roč. 413, č. 1-2, s. 51-62. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.04.017>. [cit. 2023-12-25].
- [156] KUMAR, Abhinav; TERAOSOLPHAN, Wachirun; HASSOUN, Mireille; VANDERA, Kalliopi-Kelli; NOVICKY, Astrid et al. A Biocompatible Synthetic Lung Fluid Based on Human Respiratory Tract Lining Fluid Composition. online. *Pharmaceutical Research*. 2017, roč. 34, č. 12, s. 2454-2465. ISSN 0724-8741. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2169-4>. [cit. 2023-12-25].

- [157] COUFALÍK, Pavel; MIKUŠKA, Pavel; MATOUŠEK, Tomáš a VEČEŘA, Zbyněk. Determination of the bioaccessible fraction of metals in urban aerosol using simulated lung fluids. online. *Atmospheric Environment*. 2016, roč. 140, s. 469-475. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.06.031>. [cit. 2023-12-25].
- [158] HERTING, Gunilla; ODNEVALL WALLINDER, Inger a LEYGRAF, Christofer. Factors that influence the release of metals from stainless steels exposed to physiological media. online. *Corrosion Science*. 2006, roč. 48, č. 8, s. 2120-2132. ISSN 0010938X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2005.08.006>. [cit. 2023-12-25].
- [159] STEFANIAK, A.B.; GUILMETTE, R.A.; DAY, G.A.; HOOVER, M.D.; BREYSSE, P.N. et al. Characterization of phagolysosomal simulant fluid for study of beryllium aerosol particle dissolution. online. *Toxicology in Vitro*. 2005, roč. 19, č. 1, s. 123-134. ISSN 08872333. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2004.08.001>. [cit. 2023-12-25].
- [160] SPITLER, Grant; SPITZ, Henry; GLASSER, Stephan; HOFFMAN, M. a BOWEN, James. In Vitro Dissolution of Uranium-contaminated Soil in Simulated Lung Fluid Containing a Pulmonary Surfactant. online. *Health Physics*. 2015, roč. 108, č. 3, s. 336-343. ISSN 0017-9078. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000211>. [cit. 2023-12-25].
- [161] Curosurf: Souhrn údajů o přípravku. online. In: . Česká republika: Chiesi, 2016. Dostupné z: <https://www.chiesi.cz/curosurf/>. [cit. 2023-12-25].
- [162] THAI, Le-Phuong-Anh; MOUSSEAU, Fanny; OIKONOMOU, Evdokia; RADIOM, Milad a BERRET, Jean-François. Effect of Nanoparticles on the Bulk Shear Viscosity of a Lung Surfactant Fluid. online. *ACS Nano*. 2020, roč. 14, č. 1, s. 466-475. ISSN 1936-0851. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b06293>. [cit. 2024-04-23].
- [163] MOUSSEAU, F. a BERRET, J.-F. The role of surface charge in the interaction of nanoparticles with model pulmonary surfactants. online. *Soft Matter*. 2018, roč. 14, č. 28, s. 5764-5774. ISSN 1744-683X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C8SM00925B>. [cit. 2024-04-23].
- [164] Handbook of ICP-QQQ Applications using the Agilent 8800 and 8900. online. 5. 2022. ISSN 5991-2802EN. Dostupné z: [https://www.agilent.com/cs/library/applications/appcompendium\\_icp-qqq-5991-2802en-us-agilent.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/applications/appcompendium_icp-qqq-5991-2802en-us-agilent.pdf). [cit. 2023-12-28].
- [165] JULIEN, Caboche; ESPERANZA, Perdrix; BRUNO, Malet a ALLEMAN, Laurent. Development of an in vitro method to estimate lung bioaccessibility of metals from atmospheric particles. online. *Journal of Environmental*

- Monitoring*. 2011, roč. 13, č. 3. ISSN 1464-0325. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c0em00439a>. [cit. 2023-12-29].
- [166] CIGÁNKOVÁ, Hana. *Charakterizace kovů v atmosférickém aerosolu*. online, Disertační práce, vedoucí Jozef Krajčovič. Brno: Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí, 2022. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/11012/203296>. [cit. 2023-08-21].
- [167] Microsoft Excel 2019. software. In: . United States of America: Microsoft. Dostupné z: [https://www.microsoft.com/cs-cz/microsoft-365/p/excel/CFQ7TTC0HR4R?&ef\\_id=Cj0KCQiAw9qOBhC-ARIsAG-rdn6yQmQ-yrmnEG73LG8uFUDc9\\_CNwBneiuC6mX4gUp2BbIqws33sek0aApNqEALw\\_wcB:G:s&OCID=AID2200006\\_SEM\\_Cj0KCQiAw9qOBhC-ARIsAG-rdn6yQmQ-yrmnEG73LG8uFUDc9\\_CNwBneiuC6mX4gUp2BbIqws33sek0aApNqEALw\\_wcB:G:s&lnkd=Google\\_O365SMB\\_Brand&gclid=Cj0KCQiAw9qOBhC-ARIsAG-rdn6yQmQ-yrmnEG73LG8uFUDc9\\_CNwBneiuC6mX4gUp2BbIqws33sek0aApNqEALw\\_wcB](https://www.microsoft.com/cs-cz/microsoft-365/p/excel/CFQ7TTC0HR4R?&ef_id=Cj0KCQiAw9qOBhC-ARIsAG-rdn6yQmQ-yrmnEG73LG8uFUDc9_CNwBneiuC6mX4gUp2BbIqws33sek0aApNqEALw_wcB:G:s&OCID=AID2200006_SEM_Cj0KCQiAw9qOBhC-ARIsAG-rdn6yQmQ-yrmnEG73LG8uFUDc9_CNwBneiuC6mX4gUp2BbIqws33sek0aApNqEALw_wcB:G:s&lnkd=Google_O365SMB_Brand&gclid=Cj0KCQiAw9qOBhC-ARIsAG-rdn6yQmQ-yrmnEG73LG8uFUDc9_CNwBneiuC6mX4gUp2BbIqws33sek0aApNqEALw_wcB). [cit. 2022-01-06]. Požadavky na systém: Windows 11, Windows 10 a macOS, velikost: 4GB.
- [168] Google Colaboratory. online. In: . Mountain View, USA: Google. Dostupné z: <https://colab.research.google.com/>. [cit. 2022-04-25].
- [169] YUBERO, E.; GALINDO, N.; NICOLÁS, J.; CRESPO, J.; CALZOLAI, G. et al. Temporal variations of PM1 major components in an urban street canyon. online. *Environmental Science and Pollution Research*. 2015, roč. 22, č. 17, s. 13328-13335. ISSN 0944-1344. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4599-z>. [cit. 2024-05-15].
- [170] ZHANG, Liyuan; CHENG, Yan; ZHANG, Yue; HE, Yuanping; GU, Zhaolin et al. Impact of Air Humidity Fluctuation on the Rise of PM Mass Concentration Based on the High-Resolution Monitoring Data. online. *Aerosol and Air Quality Research*. 2017, roč. 17, č. 2, s. 543-552. ISSN 16808584. Dostupné z: <https://doi.org/10.4209/aaqr.2016.07.0296>. [cit. 2024-05-15].
- [171] CIGÁNKOVÁ, Hana; MIKUŠKA, Pavel; HEGROVÁ, Jitka; POKORNÁ, Petra; SCHWARZ, Jaroslav et al. Seasonal Variation and Sources of Elements in Urban Submicron and Fine Aerosol in Brno, Czech Republic. online. *Aerosol and Air Quality Research*. 2021, roč. 21, č. 5. ISSN 16808584. Dostupné z: <https://doi.org/10.4209/aaqr.2020.09.0556>. [cit. 2023-08-21].
- [172] MAJEWSKI, Grzegorz; ROGULA-KOZŁOWSKA, Wioletta; ROZBICKA, Katarzyna; ROGULA-KOPIEC, Patrycja; MATHEWS, Barbara et al.

- Concentration, Chemical Composition and Origin of PM1: Results from the First Long-term Measurement Campaign in Warsaw (Poland). online. *Aerosol and Air Quality Research*. 2018, roč. 18, č. 3, s. 636-654. ISSN 16808584. Dostupné z: <https://doi.org/10.4209/aaqr.2017.06.0221>. [cit. 2024-05-15].
- [173] VECCHI, R.; MARCAZZAN, G.; VALLI, G.; CERIANI, M. a ANTONIAZZI, C. The role of atmospheric dispersion in the seasonal variation of PM1 and PM2.5 concentration and composition in the urban area of Milan (Italy). online. *Atmospheric Environment*. 2004, roč. 38, č. 27, s. 4437-4446. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.05.029>. [cit. 2024-05-16].
- [174] GOMIŠČEK, B; HAUCK, H; STOPPER, S a PREINING, O. Spatial and temporal variations of PM1, PM2.5, PM10 and particle number concentration during the AUPHEP—project. online. *Atmospheric Environment*. 2004, roč. 38, č. 24, s. 3917-3934. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.03.056>. [cit. 2024-05-16].
- [175] ALASTUEY, Andrés; QUEROL, Xavier; AAS, Wenche; LUCARELLI, Franco; PÉREZ, Noemí et al. Geochemistry of PM<sub>10</sub> over Europe during the EMEP intensive measurement periods in summer 2012 and winter 2013. online. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2016, roč. 16, č. 10, s. 6107-6129. ISSN 1680-7324. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/acp-16-6107-2016>. [cit. 2024-05-15].
- [176] WAGENER, Sandra; LANGNER, Marcel; HANSEN, Ute; MORISKE, Heinz-Jörn a ENDLICHER, Wilfried. Spatial and seasonal variations of biogenic tracer compounds in ambient PM10 and PM1 samples in Berlin, Germany. online. *Atmospheric Environment*. 2012, roč. 47, s. 33-42. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.11.044>. [cit. 2024-05-16].
- [177] SHAH, Munir a SHAHEEN, N. Annual and Seasonal Variations of Trace Metals in Atmospheric Suspended Particulate Matter in Islamabad, Pakistan. online. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2008, roč. 190, č. 1-4, s. 13-25. ISSN 0049-6979. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9575-x>. [cit. 2024-05-16].
- [178] WISEMAN, Clare a ZEREINI, Fathi. Characterizing metal(loid) solubility in airborne PM10, PM2.5 and PM1 in Frankfurt, Germany using simulated lung fluids. online. *Atmospheric Environment*. 2014, roč. 89, s. 282-289. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.02.055>. [cit. 2024-05-16].
- [179] JUNNINEN, Heikki; MØNSTER, Jacob; REY, Maria; CANCELINHA, Jose; DOUGLAS, Kevin et al. Quantifying the Impact of Residential Heating on the Urban Air Quality in a Typical European Coal Combustion Region. online.

- Environmental Science & Technology*. 2009, roč. 43, č. 20, s. 7964–7970. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/es8032082>. [cit. 2024-05-16].
- [180] COSTABILE, F.; GUALTIERI, M.; CANEPARI, S.; TRANFO, G.; CONSALES, C. et al. Evidence of association between aerosol properties and in-vitro cellular oxidative response to PM1, oxidative potential of PM2.5, a biomarker of RNA oxidation, and its dependency on combustion sources. online. *Atmospheric Environment*. 2019, roč. 213, s. 444-455. ISSN 13522310. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.06.023>. [cit. 2024-05-19].
- [181] CIGÁNKOVÁ, H.; MIKUŠKA, P.; HEGROVÁ, J. a KRAJČOVIČ, J. Comparison of oxidative potential of PM1 and PM2.5 urban aerosol and bioaccessibility of associated elements in three simulated lung fluids. online. *Science of The Total Environment*. 2021, roč. 800. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149502>. [cit. 2023-08-21].
- [182] VELDHUIZEN, Edwin a HAAGSMAN, Henk. Role of pulmonary surfactant components in surface film formation and dynamics. online. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 2000, roč. 1467, č. 2, s. 255-270. ISSN 00052736. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00256-X](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00256-X). [cit. 2024-05-17].
- [183] THEODOROU, Ioannis; RUENRAROENGSAK, Pakatip; GOW, Andrew; SCHWANDER, Stephan; ZHANG, Junfeng et al. Effect of pulmonary surfactant on the dissolution, stability and uptake of zinc oxide nanowires by human respiratory epithelial cells. online. *Nanotoxicology*. 2016, roč. 10, č. 9, s. 1351-1362. ISSN 1743-5390. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/17435390.2016.1214762>. [cit. 2024-05-19].
- [184] THEODOROU, Ioannis; BOTELHO, Danielle; SCHWANDER, Stephan; ZHANG, Junfeng; CHUNG, Kian et al. Static and Dynamic Microscopy of the Chemical Stability and Aggregation State of Silver Nanowires in Components of Murine Pulmonary Surfactant. online. *Environmental Science & Technology*. 2015, roč. 49, č. 13, s. 8048-8056. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01214>. [cit. 2024-05-19].
- [185] ZUO, Ji-Chao; GAO, Ting-Ting; SU, Xiao-Juan; WAN, Tian-Ying a HU, Hongqing. Effect of phosphate and organic acid addition on passivation of simulated Pb contaminated soil and the stability of the product. online. *Huanjing kexue*. 2014, roč. 35, č. 10, s. 3874-3881. Dostupné z: <https://doi.org/10.13227/j.hjkx.2014.10.033>. [cit. 2024-05-17].
- [186] CALAS, Aude; UZU, Gaëlle; MARTINS, Jean; VOISIN, Didier; SPADINI, Lorenzo et al. The importance of simulated lung fluid (SLF) extractions for a more relevant evaluation of the oxidative potential of particulate matter. online.

- Scientific Reports*. 2017, roč. 7, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11979-3>. [cit. 2024-05-19].
- [187] TOPLAN, S.; OZCELIK, D.; DARIYERLI, N. a AKYOLCU, M. Oxidant and antioxidant status of cadmium administered rats. online. *Journal de Physique IV (Proceedings)*. 2003, roč. 107, s. 1309-1312. ISSN 1155-4339. Dostupné z: <https://doi.org/10.1051/jp4:20030541>. [cit. 2024-05-18].
- [188] POURAHMAD, Jalal; O'BRIEN, Peter; JOKAR, Farzaneh a DARAEI, Bahram. Carcinogenic metal induced sites of reactive oxygen species formation in hepatocytes. online. *Toxicology in Vitro*. 2003, roč. 17, č. 5-6, s. 803-810. ISSN 08872333. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(03\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(03)00123-1). [cit. 2024-05-19].
- [189] KACHUR, Alexander; HELD, Kathryn; KOCH, Cameron a BIAGLOW, John. Mechanism of Production of Hydroxyl Radicals in the Copper-Catalyzed Oxidation of Dithiothreitol. online. *Radiation Research*. 1997, roč. 147, č. 4. ISSN 00337587. Dostupné z: <https://doi.org/10.2307/3579496>. [cit. 2024-05-18].
- [190] SWEENEY, Sinbad; LEO, Bey; CHEN, Shu; ABRAHAM-THOMAS, Nisha; THORLEY, Andrew et al. Pulmonary surfactant mitigates silver nanoparticle toxicity in human alveolar type-I-like epithelial cells. online. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016, roč. 145, č. 1, s. 167-175. ISSN 09277765. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.04.040>. [cit. 2024-05-19].
- [191] BOUHAFS, Rabea a JARSTRAND, Connie. Effects of Antioxidants on Surfactant Peroxidation by Stimulated Human Polymorphonuclear Leukocytes. online. *Free Radical Research*. 2009, roč. 36, č. 7, s. 727-734. ISSN 1071-5762. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10715760290032593>. [cit. 2024-05-19].
- [192] JIA, Jianbo; YUAN, Xiaoru; PENG, Xiaowu a YAN, Bing. Cr(VI)/Pb<sup>2+</sup> are responsible for PM<sub>2.5</sub>-induced cytotoxicity in A549 cells while pulmonary surfactant alleviates such toxicity. online. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019, roč. 172, s. 152-158. ISSN 01476513. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.073>. [cit. 2024-05-19].
- [193] DANI, Carlo; BUONOCORE, Giuseppe; LONGINI, Mariangela; FELICI, Cosetta; RODRIGUEZ, Antonello et al. Superoxide dismutase and catalase activity in naturally derived commercial surfactants. online. *Pediatric Pulmonology*. 2009, roč. 44, č. 11, s. 1125-1131. ISSN 8755-6863. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ppul.21116>. [cit. 2024-05-19].
- [194] GHANEM, Manuella; PERDRIX, Esperanza; ALLEMAN, Laurent; ROUSSET, Davy a CODDEVILLE, Patrice. Phosphate Buffer Solubility and Oxidative Potential of Single Metals or Multielement Particles of Welding

- Fumes. online. *Atmosphere*. 2021, roč. 12, č. 1. ISSN 2073-4433. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/atmos12010030>. [cit. 2024-05-18].
- [195] KRĘŻEL, Artur; LEŚNIAK, Wojciech; JEŻOWSKA-BOJCZUK, Małgorzata; MŁYNARZ, Piotr; BRASUŃ, Justyna et al. Coordination of heavy metals by dithiothreitol, a commonly used thiol group protectant. online. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2001, roč. 84, č. 1-2, s. 77-88. ISSN 01620134. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(00\)00212-9](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(00)00212-9). [cit. 2024-05-18].
- [196] FANG, T.; VERMA, V.; GUO, H.; KING, L.; EDGERTON, E. et al. A semi-automated system for quantifying the oxidative potential of ambient particles in aqueous extracts using the dithiothreitol (DTT) assay: results from the Southeastern Center for Air Pollution and Epidemiology (SCAPE). online. *Atmospheric Measurement Techniques*. 2015, roč. 8, č. 1, s. 471-482. ISSN 1867-8548. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/amt-8-471-2015>. [cit. 2023-11-30].
- [197] IN 'T VELD, Marten; PANDOLFI, M.; AMATO, F.; PÉREZ, N.; RECHE, C. et al. Discovering oxidative potential (OP) drivers of atmospheric PM<sub>10</sub>, PM<sub>2.5</sub>, and PM<sub>1</sub> simultaneously in North-Eastern Spain. online. *Science of The Total Environment*. 2023, roč. 857. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159386>. [cit. 2024-05-19].
- [198] BORLAZA, Lucille; WEBER, Samuël; MARSAL, Anouk; UZU, Gaëlle; JACOB, Véronique et al. Nine-year trends of PM 10 sources and oxidative potential in a rural background site in France. online. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2022, roč. 22, č. 13, s. 8701-8723. ISSN 1680-7324. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/acp-22-8701-2022>. [cit. 2024-05-19].
- [199] LI, Zhirao; NIE, Dongyang; CHEN, Mindong; GE, Pengxiang; LIU, Zhengjiang et al. Seasonal variation of oxidative potential of water-soluble components in PM<sub>2.5</sub> and PM<sub>1</sub> in the Yangtze River Delta, China. online. *Air Qual Atmos Health*. 2021, roč. 14, č. 11, s. 1825-1836. ISSN 1873-9318. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11869-021-01056-0>. [cit. 2024-05-19].
- [200] CAMMAN, Julie; CHAZEAU, Benjamin; MARCHAND, Nicolas; DURAND, Amandine; GILLE, Grégory et al. Oxidative potential apportionment of atmospheric PM 1: a new approach combining high-sensitive online analysers for chemical composition and offline OP measurement technique. online. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2024, roč. 24, č. 5, s. 3257-3278. ISSN 1680-7324. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/acp-24-3257-2024>. [cit. 2024-05-19].
- [201] WANG, Shun Yao; YE, Jianhuai; SOONG, Ronald; WU, Bing; YU, Legeng et al. Relationship between chemical composition and oxidative potential of secondary organic aerosol from polycyclic aromatic hydrocarbons. online.

*Atmospheric Chemistry and Physics*. 2018, roč. 18, č. 6, s. 3987-4003. ISSN 1680-7324. Dostupné z: <https://doi.org/10.5194/acp-18-3987-2018>. [cit. 2024-05-18].

- [202] NTZIACHRISTOS, Leonidas; FROINES, John; CHO, Arthur a SIOUTAS, Constantinos. Relationship between redox activity and chemical speciation of size-fractionated particulate matter. online. *Particle and Fibre Toxicology*. 2007, roč. 4, č. 1. ISSN 1743-8977. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1743-8977-4-5>. [cit. 2024-05-19].