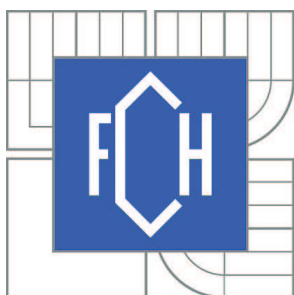


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

STANOVENÍ PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN POMOCÍ SEPARAČNÍCH METOD

DETERMINATION OF PERFLUORINATED COMPOUNDS USING SEPARATION METHODS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

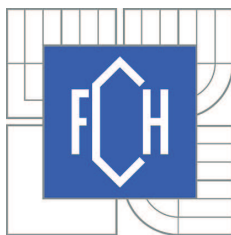
Bc. EVA BLAŽKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2010



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

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0441/2009	Akademický rok: 2009/2010
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Eva Blažková	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:	Ing. Ludmila Mravcová	

Název diplomové práce:

Stanovení perfluorovaných sloučenin pomocí separačních metod

Zadání diplomové práce:

1. Zpracování literární rešerše
2. Výběr vhodných analytů ze skupiny perfluorovaných sloučenin ke sledování
3. Výběr vhodných separačních metod pro jejich stanovení
4. Vypracování optimální metody pro jejich stanovení
5. Pomocí optimální metody provést stanovení modelových vzorků
6. Zhodnocení získaných výsledků a zpracování závěrů

Termín odevzdání diplomové práce: 14.5.2010

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

Bc. Eva Blažková
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

V teoretické části diplomové práce byla řešena aktuální problematika přítomnosti perfluorovaných organických sloučenin ve složkách životního prostředí. Pozornost byla zaměřena na perfluorooktanovou kyselinu (PFOA), perfluorooktansulfonát (PFOS) a perfluorooktansulfonamid (FOSA). Popsány byly fyzikálně-chemické vlastnosti těchto organických polutantů a jejich toxikologické a environmentální aspekty. Uvedeny byly také možnosti jejich analytického stanovení. V experimentální části byla zkoumána účinnost extrakčních technik (sonikace, tlaková extrakce rozpouštědlem, extrakce na pevnou fázi) používaných k separaci PFAS ze vzorků půd z požáříšť. Identifikace analytů proběhla s využitím vysoko účinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí.

ABSTRACT

The theoretical part of this diploma thesis consists of current matters regarding the presence of perfluorinated organic compounds in living environment elements. The attention has been focused on perfluorooctanoic acid (PFOA), (PFOS), and (FOSA). Physical-chemical characteristics of these organic pollutants and their toxicological and environmental aspects have been described. Possible ways of the pollutants analytical determination have been specified. The experimental part has explored effects of extraction techniques (sonication, pressurized solvent extraction, solid-phase extraction) used for PFAS separation from seats of fire soil sample. Identification of the analytes have been achieved by liquid chromatography/mass spectrometry.

KLÍČOVÁ SLOVA

Perfluoroalkylované sloučeniny (PFAS), extrakce na tuhém sorbentu (SPE), sonikace, tlaková extrakce rozpouštědlem (PSE), vysoko účinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC-MS)

KEYWORDS

Perfluorinated alkyl substances (PFAS), solid-phase extraction (SPE), sonication, pressurized solvent extraction (PSE), High performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC-MS)

BLAŽKOVÁ, E. *STANOVENÍ PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN POMOCÍ SEPARAČNÍCH METOD*. BRNO: VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ, FAKULTA CHEMICKÁ, 2010. 75 S. VEDOUČÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE PROF. RNDR. MILADA VÁVROVÁ, CSC.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji paní Prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. a paní Ing. Ludmile Mravcové za cenné rady, ochotu a připomínky při zpracování této práce.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	CHARAKTERISTIKA PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN	8
2.1	ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ A FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI	8
2.2	VÝROBA A POUŽITÍ PERFLUOROALKYLOVANÝCH SLOUČENIN	11
2.2.1	<i>Elektrochemická fluorace</i>	11
2.2.2	<i>Telomerace</i>	14
2.2.3	<i>Oligomerace</i>	15
2.2.4	<i>Použití PFAS</i>	15
2.3	ENVIRONMENTÁLNÍ VLASTNOSTI	16
2.3.1	<i>Osud perfluoroalkylovaných látek v životním prostředí</i>	17
2.3.1.1	Atmosféra	20
2.3.1.2	Hydrosféra	20
2.3.1.3	Pedosféra	21
2.3.1.4	Biosféra	22
2.3.1.5	Výskyt perfluorovaných organických sloučenin u člověka	25
2.4	TOXIKOLOGICKÉ VLASTNOSTI	26
2.4.1	<i>Toxicita pro savce</i>	26
2.4.2	<i>Toxicita pro vodní organismy</i>	28
3	ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN .	30
3.1	ODBĚR A UCHOVÁNÍ VZORKŮ	32
3.2	IZOLACE ANALYTŮ ZE VZORKU (EXTRAKCE)	32
3.2.1	<i>Sonikace</i>	32
3.2.2	<i>Zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE, PSE)</i>	33
3.2.3	<i>Extrakce na tuhém sorbentu (SPE)</i>	33
3.2.4	<i>Voda</i>	35
3.2.5	<i>Půdy, sediment a odpadní kal</i>	36
3.2.6	<i>Biologický materiál</i>	37
3.3	ANALYTICKÁ KONCOVKA STANOVENÍ PFAS	38
3.3.1	<i>Vysokoučinná kapalinová chromatografie</i>	38
3.3.2	<i>Hmotnostní spektrometrie</i>	39
3.3.3	<i>Spojení HPLC-MS</i>	39
3.3.4	<i>Vlastní stanovení PFAS metodou LC-MS</i>	42

4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	47
4.1	POUŽÍVANÉ PŘÍSTROJE, ZAŘÍZENÍ A SOFTWARE.....	47
4.1.1	<i>Zařízení pro přípravu a extrakci vzorků</i>	47
4.1.2	<i>Kapalinová chromatografie</i>	47
4.1.3	<i>Software pro zpracování a prezentaci dat</i>	47
4.2	CHEMIKÁLIE, SPOTŘEBNÍ MATERIÁL A STANDARDY.....	47
4.2.1	<i>Rozpouštědla</i>	47
4.2.2	<i>Chemikálie a jiné materiály</i>	48
4.2.3	<i>Použité SPE extrakční kolony</i>	48
4.2.4	<i>Technické plyny</i>	48
4.2.5	<i>Použité standardy</i>	48
4.2.6	<i>Studovaná matrice</i>	48
4.3	PRACOVNÍ POSTUPY	48
4.3.1	<i>Princip metod</i>	48
4.3.2	<i>Izolace analytů</i>	49
4.3.2.1	<i>Zrychlená extrakce rozpouštědlem (PSE)</i>	49
4.3.2.2	<i>Sonikace</i>	49
4.3.3	<i>Přečištění extraktů</i>	50
4.3.3.1	<i>Extrakce na pevnou fázi (SPE)</i>	50
4.3.4	<i>Identifikace a kvantifikace analytů</i>	50
	<i>Podmínky chromatografické separace</i>	51
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	54
5.1	OPTIMALIZACE CHROMATOGRAFICKÝCH PODMÍNEK	54
5.2	KALIBRAČNÍ KŘIVKA, MEZ DETEKCE, MEZ STANOVITELNOSTI	55
5.3	POROVNÁNÍ ÚČINNOSTÍ RŮZNÝCH POSTUPŮ EXTRAKCE.....	58
5.4	OPTIMALIZACE SPE POSTUPU	61
5.4.1	<i>Postup pro kolonky OASIS HLB a ENVI-18</i>	62
5.4.2	<i>Postupy pro kolonky LC-SAX</i>	62
5.5	STANOVENÍ PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN VE VZORCÍCH PŮDY	64
6	ZÁVĚR.....	70
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	71
8	SEZNAM SYMBOLŮ	75

1 ÚVOD

Problematika kontaminantů vznikajících antropogenní činností je v posledních letech jedním z nejdiskutovanějších environmentálních témat. Při sledování zátěže životního prostředí různými skupinami chemických látek je pozornost soustředována nejen na halogenované kontaminanty typu polychlorovaných bifenyly (PCB) nebo organochlorových pesticidů (OCP), ale také na bromované retardátory hoření (BFR) a na poměrně „novou“ skupinu organických polutantů, kterou jsou perfluorované sloučeniny. Na základě současných informací se tyto látky řadí mezi perzistentní sloučeniny s bioakumulačním potenciálem, a proto je lze zařadit mezi prioritní organické polutanty.

Perfluoroalkylované látky jsou skupinou synteticky vyrobených látek zahrnujících několik stovek sloučenin, včetně jejich oligomerů a polymerů, rozdělených podle struktury do 23 skupin. Důležitými podskupinami jsou perfluorované organické surfaktanty a fluorované organické polymery. Mezi nejsledovanější zástupce perfluorovaných sloučenin patří kyselina perfluoro-oktanová (PFOA), perfluorooktansulfonamid (FOSA), perfluorooktansulfonát a jeho soli (PFOS).

Perfluorované sloučeniny pronikly do životního prostředí především výrobou a následným užitím nejrůznějších produktů, ve kterých jsou obsaženy. Používají se ve fotografickém průmyslu, při výrobě polovodičů, na ochranu textilií, nábytku, koberců a rovněž jako aditiva do hasících pěn a hydraulických kapalin.

Prostřednictvím některých studií bylo potvrzeno, že PFOA a PFOS jsou globálními kontaminanty biotické i abiotické složky prostředí a zasahují i lidskou populaci. Tyto analyty byly detekovány nejen v mateřském mléce, ale přítomnost PFOS byla také prokázána v organismech ryb, ptáků a savců. Na základě toho lze konstatovat, že tato látka může pronikat i do potravních řetězců. Studie zabývající se perfluoroalkylovanými sloučeninami pocházejí většinou ze Spojených států a Kanady, avšak hladiny detekované v Evropě bývají dosti podobné. Majoritně detekovaným analytem je hlavně PFOS, jehož hladiny se pohybují v rozmezí jednotek až stovek ng/g matrice.

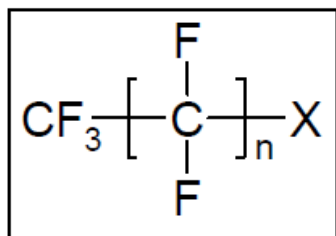
Skutečnost, že přítomnost PFOS byla zjištěna ve tkáních zvířat pocházejících i z arktických oblastí, je velmi alarmující. Předpisy limitující používání perfluorovaných sloučenin a limity pro jejich hladiny v životním prostředí zatím neexistují. V současné době je však cílem získávat o této skupině látek co nejvíce informací a na základě nich jejich používání postupně eliminovat a nahrazovat perfluorované sloučeniny látkami, které jsou lépe odbouratelné a neovlivňují negativně životní prostředí.

Na základě dosud provedených studií byla přítomnost PFOS a PFOA potvrzena na mnoha místech světa, a to jak v abiotické, tak i v biotické složce prostředí. Díky těmto studiím ukončil největší světový producent perfluorovaných látek, americká společnost 3M, výrobu těchto sloučenin.

2 CHARAKTERISTIKA PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN

2.1 Základní chemické a fyzikální vlastnosti

Perfluorované organické sloučeniny jsou skupinou synteticky vyrobených látek, v jejichž molekule jsou všechny atomy vodíku, které jsou vázány přímo na uhlík, nahrazeny atomy fluoru. Jejich obecný vzorec je znázorněn na obrázku 1.



Obrázek 1: Obecný vzorec perfluorovaných sloučenin

Perfluoroalkylované sloučeniny (PFAS) je společný název pro skupinu syntetických fluorovaných látek, včetně jejich oligomerů a polymerů. Tato skupina zahrnuje několik set sloučenin, které se rozdělují podle struktury do 23 kategorií (tabulka 1). V komerčních produktech kolísá délka alkylového perfluorovaného řetězce od 4 do 20 atomů uhlíku. Řetězec může být lineární nebo rozvětvený. PFAS (RX) jsou sloučeniny obsahující hydrofobní alkylové řetězce (R) o různé délce a hydrofilní koncové skupiny (X) [1].

Hydrofilní koncová skupina může být neutrální, kladně nebo záporně nabitá. Příkladem záporně nabitých skupin jsou $-\text{SO}_3^-$, $-\text{COO}^-$, $-\text{OPO}_3^-$. Mezi kladně nabitými skupinami patří například kvartérní amoniová sůl $-\text{NH}_4^+$ a neutrální koncové skupiny jsou například $-\text{OH}$, $-\text{SO}_3\text{NH}_2$ [2].

Nejvíce údajů je k dispozici o sloučeninách s osmi atomy uhlíku. Důležitými podskupinami jsou perfluorované organické surfaktanty a fluorované organické polymery. Mezi nejsledovanější zástupce perfluorovaných sloučenin patří perfluorooktansulfonát a jeho soli (PFOS), kyselina perfluorooktanová (PFOA) a perfluorooktansulfonamid (FOSA) [1].

Tabulka 1: Kategorie PFAS [2]

Kategorie	Typ sloučenin	Počet zástupců
1	Perfluoroalkylsulfonát	18
2	Deriváty perfluoroalkylsulfonátů	10
3	Perfluoroalkylsulfonamidy	60
4	Deriváty perfluoroalkylsulfonamidalkoholů	12
5	Deriváty perfluoroalkylsulfonamidfosforečnanů	6
6	Deriváty perfluoroalkylsulfonamidglycinů	6
7	Deriváty perfluoroalkylsulfonamidpolyetoxylátů	7
8	Deriváty perfluoroalkylsulfonamidaminopropylů	28
9	Deriváty perfluoroalkylsulfonamidchromitých komplexů	6
10	Perfluorokarboxylové kyseliny	29
11	Fluorosulfonamidy	1
12	Fluoroestery	5
13	Fluorothioestery	9
14	Fluorokarboxyláty	3
15	Fluoroethany	2
16	Fluoroalkoholy	14
17	Fluoroakryláty	84
18	Fluorofosfáty	8
19	Deriváty fluoroalkoholů	5
20	Perfluorosulfonamidakrylátové polymery	13
21	Fluoroakrylátové polymery	10
22	Perfluoroalkyl a -alkoxy silany	6
23	Perfluorofosforitany	4

Mimořádné fyzikální a chemické vlastnosti PFAS sloučenin jsou důsledkem:

- vysoké elektronegativity atomů fluoru (4,0)
- silné kovalentní vazby C-F (cca 466 kJ mol⁻¹)
- malého průměru atomů fluoru

Síla vazby je ovlivněna další strukturou molekuly a její síla se zvyšuje s vyšším stupněm fluorace.

PFAS jsou chemicky inertní, vysoce termostabilní a mají schopnost snižovat povrchové napětí. Nízké povrchové napětí také zlepšuje tvorbu stabilních vrstev pěn důležitých při protipožárních aplikacích. Některé PFAS proto slouží jako povrchově aktivní látky, jiné jako meziprodukty při tvorbě polymerů nebo oligomerů. PFAS s nízkými molekulovými hmotnostmi jsou také možnými meziprodukty při degradaci polymerů [3].

Rozpustnost perfluorovaných sloučenin v různých rozpouštědlech je ovlivněna vazbou C-F a jiných funkčních skupin ve struktuře. Rozpustnost perfluorovaných sloučenin je obecně nízká jak ve vodě tak v organických rozpouštědlech. Některé PFAS po smíchání s uhlovodíky a vodou tvoří tři nemísitelné fáze; jedná se totiž o látky hydrofobní i oleofobní povahy. Nabitá složka, která je navázána na perfluorovaný řetězec, jako je karboxylová kyselina, sulfonová

kyselina, fosforečnan nebo kvartérní amoniová sůl, způsobuje větší rozpustnost molekul ve vodě z důvodu hydrofilní povahy těchto nabitých složek. Rozdělovací koeficient n-oktanol/voda je pro tuto skupinu látek obtížné určit. V běžných podmínkách nepodléhá perfluorovaný řetězec fotolýze, hydrolýze ani biodegradaci [4].

Vzhledem k tomu, že PFAS v prostředí degradují téměř výhradně na PFOS a PFOA, představují tyto dvě látky nejvýznamnější sloučeniny celé skupiny perfluorovaných látek. PFOS a PFOA obsahují 8 atomů uhlíku. Obecně platí, že čím delší je uhlíkový řetězec, tím větší je pravděpodobnost, že se daná sloučenina dostane do organismu. Krátký uhlíkový řetězec sloučenin je také méně toxický, avšak persistentní a nepodléhá degradaci.

V Tabulkách 2 a 3 jsou shrnuty fyzikální a chemické vlastnosti PFOS a PFOA.

Tabulka 2: Fyzikální a chemické vlastnosti PFOS [5]

Vlastnost	Hodnota
Forma za normální teploty a tlaku	Bílý prášek
Molekulová hmotnost	538,23 g/mol
Empirický vzorec	$C_8HF_{17}O_3S$
Tenze par	$3,31 \times 10^{-4}$ Pa (20°C)
Rozpustnost ve vodě	519 mg/l (20 ±0,5 °C) 680 mg/l (24 – 25°C)
Bod tání	> 400 °C
Bod varu	Nezměřitelný
Log Kow	Nezměřitelný
Rozdělovací koeficient vzduch - voda	$< 2 \times 10^{-6}$

Tabulka 3: Fyzikální a chemické vlastnosti PFOA [6]

Vlastnost	Hodnota
Forma za normální teploty a tlaku	Kapalina
Molekulová hmotnost	414,07 g/mol
Empirický vzorec	$C_8HF_{15}O_2$
Tenze par	0,1 kPa (20°C) 4,2 Pa (25°C)
Rozpustnost ve vodě	3,4 g/l 4,1 g/l (22°C) 9,5 g/l (25°C)
Bod tání	45 – 50°C
Bod varu	189 – 192°C na 746 mm Hg
Log Kow	Nezměřitelný

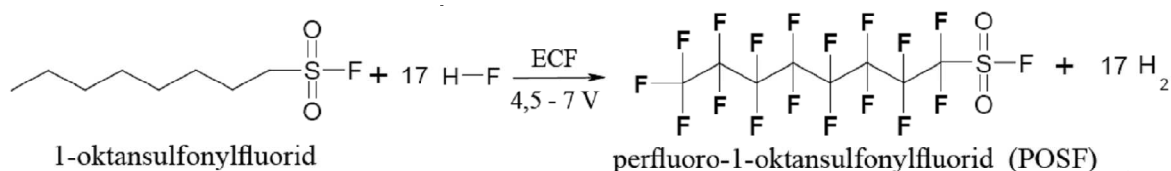
2.2 Výroba a použití perfluoroalkylovaných sloučenin

PFAS se začaly vyrábět po druhé světové válce a jejich výroba je soustředěna v Evropě, USA a Japonsku [7]. Existují tři výrobní postupy pro perfluorované sloučeniny, a to elektrochemická fluorace, telomerace a oligomerace. Ale jen první dva uvedené postupy jsou běžně využívány. Příklady sloučenin PFAS, a to podle způsobu výroby, jsou prezentovány v tabulkách 4 a 5.

2.2.1 Elektrochemická fluorace

Tato metoda byla vyvinuta v roce 1944 Simonsem a výsledkem jsou větvené i nevětvené plně fluorované produkty obsahující sulfonylovou skupinu.

Při elektrochemické fluoraci je výchozí organická sloučenina ponořena do bezvodé kyseliny fluorovodíkové. Na směr je kladeno stejnosměrné napětí (4,5 – 7V), což má za následek, že všechny atomy vodíku v organické sloučenině jsou nahrazeny atomy fluoru. V průběhu tohoto procesu může dojít k fragmentaci alkylových řetězců, a proto může výsledný produkt obsahovat různé nečistoty. ECF proces představuje 35-40% výtěžnost. Příklad elektrochemické fluorace je uveden na obrázku 2 [2].

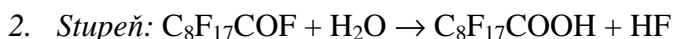


Obrázek 2: Výroba POSF procesem ECF

POSF dále reaguje s methylaminem (ethylaminem) za vzniku N-MeFOSA (N-EtFOSA). Další reakcí s ethylenkarbonátem vzniká N-MeFOSE (N-EtFOSE) [5].

Procesem ECF lze připravit všechny typy perfluorovaných látek, v závislosti na výchozích látkách a jejich čistotě. Tento způsob používala firma 3M k výrobě PFOS a PFOA, ale výroba zde byla ukončena v květnu 2000.

Při výrobě perfluorooktanové kyseliny (PFOA) procesem ECF se využívá dvoustupňové reakce, přičemž jako výchozí látka se používá oktanoylchlorid. Konečný produkt se pak získá hydrolýzou perfluorooktanoylfluoridu z první reakce [2, 8]. Průběh reakce je naznačen následujícími rovnicemi:



Tabulka 4: PFAS vyráběné elektrochemickou fluorací [2]

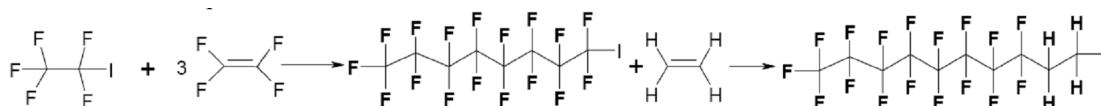
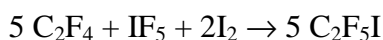
	Celý název	Strukturní vzorec	Pozn. *	Ref .
PFOA	Perfluorooktanová kyselina		1,3	1
PFBS	Perfluorobutansulfonát		1	1
PFHxS	Perfluorohexansulfonát		1	1
PFOS	Perfluorooktansulfonát		1	1
PFDS	Perfluorodekansulfonát		-	5
PFOSA	Perfluorooktan-sulfonamid		-	6
POSF	Perfluorooktan-sulfonylfluorid		2	1,6
N-MeFOSA	N-Methylperfluorooktansulfoamid		2	1,6
N-EtFOSA	N-ethylperfluorooktansulfoamid		2	1,6
N-MeFOSE	N-Methylperfluorooktan-sulfonamidoethanol		2	1
N-EtFOSE	N-Ethylperfluorooktan-sulfonamidoethanol		2	1
N-MeFOSEA	N-Methylperfluorooktan-sulfonamidoethylakrylát		4	1
N-EtFOSEA	N-Ethylperfluorooktan-sulfonamidoethylakrylát		3,4	1
N-EtFOSEMA	N-Ethylperfluorooktan-sulfonamidoethylmethakr		3,4	1

1 - Nejpravděpodobnější degradační produkt, 2 - důležitý meziprodukt při výrobě, 3 - důležitý komerční produkt, 4 - důležitý monomer pro výrobu polymerů, - data nejsou dostupná

2.2.2 Telomerace

Telomerace je dvoustupňová radikálová reakce, při níž vzniká z monomeru a iniciátoru (získá se řetězovou reakcí mezi radikálem a jinou sloučeninou) polymerní produkt.

V průběhu telomeračního procesu reaguje jodopentafluoroethan s n molekulami tetrafluorethenem (TFE) a následně s ethylenem. Na obrázku 3 je uveden příklad reakce s třemi jednotkami TFE. Produkty telomerace nejsou plně fluorované a obsahují jen velmi málo vedlejších produktů, které je navíc snadné od žádoucího produktu oddělit [8, 9].



Jodopentafluorethan tetrafluorethen perfluoroktyljodid ethylen 1H,1H,2H,2H - perfluordekyljodid

Obrázek 3: Příklad procesu telomerace [5]

Téměř všechny produkty vyrobené telomerací mají společný meziprodukt R_FC₂H₄X (kde R_F je perfluorovaný alkylový řetězec a X je kterákoliv funkční skupina). Proces telomerace v současné době používají firmy DuPont, Atofina, Clariant, Daikin a Ashai Glass.

Tabulka 5: PFAS vyráběné telomerací [2]

Zkratka	Celý název	Struktura	Pozn.*
6:2 FTOH	1H, 1H, 2H, 2H- Perfluorooktanol		2
8:2 FTOH	1H, 1H, 2H, 2H- Perfluorodekanol		2
10:2 FTOH	1H, 1H, 2H, 2H- Perfluorodekanol		-
6:2 FTA	1H, 1H, 2H, 2H- Perfluorooktylakrylát		4
8:2 FTA	1H, 1H, 2H, 2H- Perfluorodekylakrylát		4
10:2 FTMA	1H, 1H, 2H, 2H- Perfluorodekyl-		4

1 - Nejpravděpodobnější degradační produkt, 2 - důležitý meziprodukt při výrobě, 3 - důležitý komerční produkt, 4 - důležitý monomer pro výrobu polymerů, - data nejsou dostupná

2.2.3 Oligomerace

Procesem oligomerace se tvoří rozvětvené uhlíkové řetězce a méně izomerů. Tato metoda však není tak rozšířena jako proces ECF nebo telomerizace.

2.2.4 Použití PFAS

Mimořádné vlastnosti perfluorovaných sloučenin je činí cennými a nezbytnými pro použití v celé řadě různých odvětví. Využití našly již od roku 1950 při výrobě přípravků k ošetření povrchů různých předmětů (tkanin, koberců, papíru, kůže), při výrobě čisticích prostředků (pro domácí i průmyslové použití), jako aditiva do nátěrových hmot, při výrobě pesticidů a insekticidů. Po zastavení jejich výroby společností 3M (2000) došlo k významnému poklesu jejich používání a dnes je výroba lokalizována v Evropě, Asii (Japonsko) a Latinské Americe (Brazílie). Vyrábí se cca 12 000 tun/rok a hlavní použití připadá na fotografický průmysl a fotolitografii. Dále se dnes tyto sloučeniny používají jako aditiva do hasících pěn a do hydraulických tekutin a v neposlední řadě při výrobě pokovovaných předmětů a polovodičů [3].

PFAS mají schopnost modifikovat vlastnosti povrchů tkanin, koberců, papíru, kůže a umožňují jim odolávat špíně, olejovitým látkám a vodě. Při ošetření povrchu perfluorovanými látkami směřuje perfluorouhlíkový řetězec ven z povrchu, čímž snižuje povrchové napětí a vytváří tak ochrannou bariéru. Používané produkty jsou polymery na bázi fluorovaných akrylátů a metakrylátů [3].

PFOS a příbuzné látky byly používány jako povrchově aktivní látky do čisticích prostředků, jako jsou automobilové vosky, alkalické čisticí prostředky, leštidla na podlahu, čističe na zubní protézy a šampony.

PFOS a příbuzné látky mají své uplatnění také jako přísady do barev a laků. Mohou být použity nejen jako smáčecí, nivelační a dispergační prostředky, ale rovněž je lze využít ke zlepšení leštících a antistatických vlastností. Dále mohou být použity jako přísady do barviv a inkoustu. Fluorované sloučeniny jsou obecně mnohem dražší alternativy, v porovnání s jinými povrchově aktivními látkami. Tyto sloučeniny se proto používají pouze pro speciální účely, pokud je nezbytné získat velmi nízké povrchové napětí, což žádné jiné nefluorované sloučeniny neposkytují [3].

PFAS byly také využity jako ochrana různých obalových materiálů, zejména pro balení potravin, pro něž je žádoucí odpuzovat tuky, olej a vodu. Jedná se o talíře, krabice na potraviny, tašky a obaly. Při aplikaci perfluorovaných látek na papír dochází ke snížení povrchového napětí vláken v papíře a takto ošetřená vlákna potom zabraňují pronikání a ulpívání tuků, mazadel a olejů. Perfluorované sloučeniny představují asi 1 - 1,5% hmotnosti ošetřeného papíru. Kromě toho byly také aplikovány na nepotravinářské materiály, jako jsou kartony, krabice a papíry na výrobu masek. V současné době jsou v této oblasti používány fluorované telomery, například k ošetření povrchů obalů na potraviny, jako jsou krabice na pizzu, sáčky na hranolky, popcorn apod. [3, 6].

Perfluorované organické látky našly své uplatnění také při pokrývání kovů ochrannou vrstvou, hlavně při chromování, anodickém pokovování nebo kyselém moření kovů. PFAS snižují povrchové napětí pokovovacího roztoku, takže šestimocný chrom (karcinogen) je udržován v roztoku a neuniká do vzduchu [3].

Před odstavením linky na výrobu perfluorovaných látek ve firmě 3M vyráběla tato společnost nátěrové hmoty a aditiva do nátěrových hmot na bázi fluorovaných polymerů, které obsahovaly zbytky fluorovaných uhlovodíků v množství 4% a méně. Aditiva se ředila vodou nebo butylacetátem, případně se neředila vůbec. Aplikace nátěrových hmot s těmito typy aditiv zajišťovala povrchům zvýšenou odolnost proti špíně a vodě. Další typy se používaly na ochranu dlaždic, mramoru nebo betonu. Není ale jasné, které z těchto produktů byly na bázi PFOS a které na bázi příbuzných látek.

Hasící pěny byly vyvinuty na pomoc v boji proti požárům hořlavých kapalin, zejména tam, kde požár není možno uhasit pouze vodou. Jejich hustota je nižší než hustota vody, a proto budou hořlaviny vždy plavat na hladině vody. Z tohoto důvodu se použití vody stává neefektivní. Fluorované surfaktanty jsou složkou koncentrátu (forma, ve které se pěna v hasících přístrojích skladuje) spolu se zpěňovacími přísadami, rozpouštědly a dalšími látkami. Hasící pěny vznikají při hašení z pěnového koncentrátu a vzdušné vlhkosti. Takto vyrobená pěna vytvoří tenký film na povrchu hořlaviny a tím dojde k uhašení požáru. Hasící pěny mohou být rozděleny na pěny obsahující fluor (některé z nich obsahují látky příbuzné PFOS) nebo neobsahující fluor. Od dobrovolného ukončení výroby perfluorovaných organických sloučenin firmou 3M využití těchto látek v hasících pěnách radikálně pokleslo [3].

PFOS a příbuzné látky jsou používány také do směsí aplikovaných na fotografický film, fotografický papír a tiskařské desky. Využívají se jako surfaktanty, jako látky, které mají vliv na elektrostatický náboj a na tření, látky odpuzující nečistoty a látky, které ovlivňují adhezi. Pro správnou funkci na povrchu fotografických médií stačí pouze malé množství perfluorovaných sloučenin, což je důležité pro ostrost snímků. S tenčí vrstvou vznikají jasnější a ostřejší snímky, naopak při přidání většího množství jiného nefotoaktivního materiálu se ostrost snímku snižuje. Přechodem na digitální techniky se použití PFOS a příbuzných látek výrazně snížilo (asi o 80%) [5].

Perfluorované anionické surfaktanty se také přidávají do hydraulických tekutin a zabraňují tak poškození a korozi mechanických částí hydraulického systému. Tyto surfaktanty se využívají jak v civilním letectví, tak i ve vojenském nebo dopravním sektoru.

PFAS lze aplikovat i v jiných oborech a odvětvích (ve zdravotnictví, jako hydroizolace pro chirurgické předměty; v hutním průmyslu; jako pomocné látky v pesticidech; ve zpomalovačích hoření); tato použití však zahrnují velmi malou část z používání PFOS [3].

2.3 Environmentální vlastnosti

Všechny perfluorované organické sloučeniny jsou antropogenního původu a byly zjištěny v životním prostředí po celém světě.

PFAS jsou vysoce perzistentní, takže mohou v prostředí setrvávat po velmi dlouhou dobu. V prostředí jsou přítomny především ve formě nejstabilnější PFOS a PFOA, které jsou konečnými produkty rozkladu různých perfluoroalkylových sloučenin. PFOS, PFOA a další perfluorované sloučeniny jsou nyní považovány za globální environmentální kontaminanty.

K únikům PFAS do životního prostředí (ovzduší, půdy a vody) může dojít přímo z výroby a zpracovatelských závodů, avšak nejdůležitější je uvolňování během jejich používání a likvidace výrobků s obsahem těchto látek. Odhaduje se, že při zpracování PFAS na koncové produkty unikne do ŽP 1,4 % z celkového zpracovaného objemu. Ke kontaminaci prostředí dochází také vlivem aplikací popsaných v kapitole 3.2.4.

2.3.1 Osud perfluoroalkylovaných látek v životním prostředí

Osud PFAS v prostředí je obecně závislý na fyzikálně-chemických vlastnostech daných látek a na environmentálních vlastnostech životního prostředí. Látky jsou postupně distribuovány do různých složek životního prostředí. Pro distribuci látek jsou důležitými parametry rozpustnost ve vodě, těkavost, sorpční vlastnosti a rozdělovací koeficient oktanol-voda. Kow se používá pro odhad přestupu látky do tělesného tuku živočichů (bioakumulace) nebo sorpce na částice sedimentu.

PFAS vykazují dobré adsorpční vlastnosti. Sorbují se jak na sediment, tak na volné pevné částice přítomné ve vodním prostředí, dále na prachové částice obsažené ve vzduchu a na složky půdy. Poté mohou být distribuovány na dlouhé vzdálenosti. Mezi prostředím a adsorbovanou složkou se ustavuje rovnováha [2]. Model distribuce PFOS je uveden v tabulce 6.

Tabulka 6: Distribuce PFOS v prostředí [2]

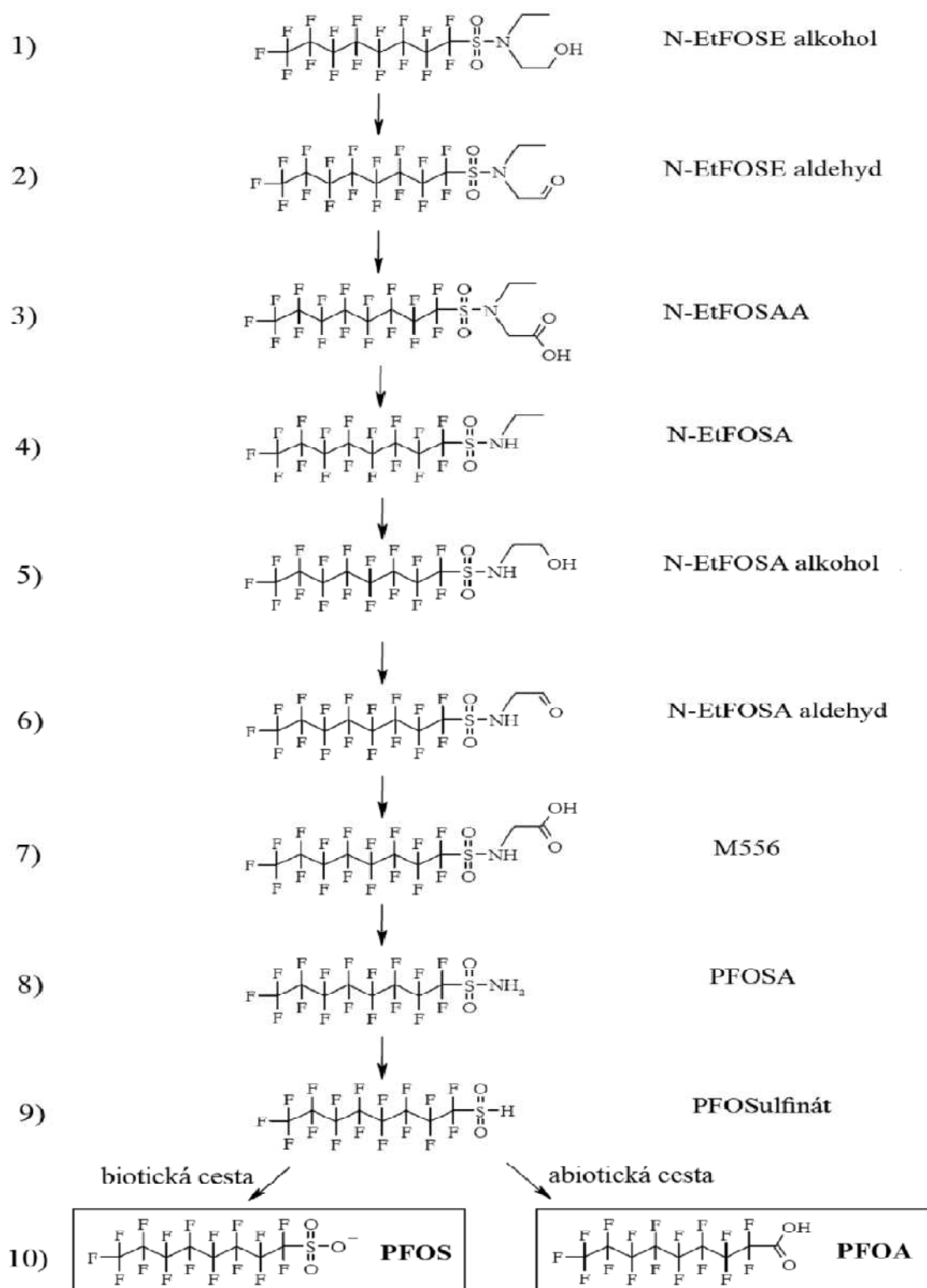
Složka	Uvolnění do		
	ovzduší	voda	zemědělská půda
Voda	0,38%	83,18%	0,26%
Mořská voda	0,04%	9,06%	0,03%
Vzduch	0,01%	0,01%	0,01%
Půda	99,55%	3,42%	99,7%
Vodní sediment	0,02%	4,2%	0,01%
Mořský sediment	0,01%	0,14%	0,01%

I přes vysokou stabilitu perfluorovaných sloučenin dochází k jejich rozkladu v životním prostředí. Vazba C-F je velmi silná, perfluorovaná část molekul je tedy stabilní a neodbouratelná všemi prostředky. Na druhou stranu funkční konec skupiny bude snáze transformován v životním prostředí a v organismech, a proto tyto sloučeniny podléhají degradaci na přetrvávající sulfonáty (např. PFOS) a karboxylové kyseliny (PFOA). Pokud je biodegradacním procesem změněna původní sloučenina, dochází k primární degradaci. Kompletní biodegradace nastane tehdy, pokud je původní sloučenina úplně přeměněna na CO₂, H₂O a anorganické soli. Dostupná data uvádějí, že fotolýza nehraje žádnou roli při degradaci perfluorovaných sloučenin.

Atmosférickou degradací fluorotelomerních alkoholů OH radikály vznikají perfluorované karboxylové kyseliny [5]. Kyseliny dále rovněž reagují s OH radikály, ale tato reakce už není tak významná [6]. Hydroxyl radikál také reaguje s 8:2 FTOH ve vodných systémech.

V kanadské studii bylo, a to pomocí počítačového programu simulujícího mikrobiální degradaci, studováno 175 polyfluorovaných sloučenin. Predikce byla, že 109 látek by mohlo být degradováno na PFOS a 61 na PFOA.

Na obrázku 4 je znázorněn příklad mikrobiální degradace N-EtFOSE v odpadní vodě; dochází zde k transformaci perfluorovaných látek na PFOS a PFOA [8].



Obrázek 4: Schéma mikrobiální degradace N-EtFOSE v odpadním kalu

2.3.1.1 *Atmosféra*

Vědci detekovali a následně identifikovali těkavé prekurzory perzistentních PFOS a PFOA v atmosféře po celém světě. Koncentrace perfluorovaných sloučenin v atmosféře někdy převyšují hodnoty pro takzvané perzistentní organické polutanty (POPs).

PFAS se v atmosféře vyskytují v závislosti na svých fyzikálně-chemických vlastnostech, a to jak volné ve vzduchu, tak sorbované na částicích. Současné studie potvrzují vysoké znečištění vnitřního ovzduší. Koncentrace PFAS ve vnitřním ovzduší, tj. v domácnostech a úřadech, byly 30 až 570 krát vyšší než ve venkovní atmosféře. Předpokládanými zdroji znečištění je uvolňování z výrobků obsahujících PFAS, například z koberců [3].

Kanadští vědci potvrdili přítomnost perfluorovaných sulfonamidů a alkoholů (N-MeFOSE, N-EtFOSE, N-EtFOSA, 6:2 FTOH, 8:2 FTOH a 10:2 FTOH) v urbanizovaném prostředí, v koncentracích 14 – 393 pg/m³ (sulfonamidy) a 7 – 196 pg/m³ (alkoholy). Na venkově však byly koncentrace 2-3 krát nižší [13].

Obsah PFOS v polétavém prachu podél japonských silnic byl stanoven až na 427 ng/g. Koncentrace v ovzduší se pohybovaly v rozmezí 0,1-2,1 pg/m³ ve venkovském prostředí a 2,3-22 pg/m³ v městském. Vyšší koncentrace byly pozorovány v létě než v zimě [14].

2.3.1.2 *Hydrosféra*

PFAS, které jsou používány po více než 50 let, se šíří relativně pomalu prostřednictvím vodních toků. Byly zjištěny v oceánech, mořích a ve většině řek a jezer. V místech, kde jsou PFAS vyráběny, zpracovávány nebo používány, jsou toky silně znečištěné. To platí zejména pro průmyslové země. Například v Tokijském zálivu se našly koncentrace 192 ng PFOA/l, 71 ng PFNA/l, 58 ng PFOS/l a 5,6 ng PFHxS/l; to jsou až 400 krát vyšší hladiny než v Tichém oceánu. Hladiny perfluorovaných sloučenin v Tichém oceánu byly obecně 5 až 10 krát nižší než v Atlantickém oceánu. Pobřežní oblast Hong Kong, Čína a Korea vykazovali až 10 krát nižší maximální hodnoty těchto sloučenin. Koncentrace těchto látek se tedy bude lišit v závislosti na čase a vzdálenosti od místa použití produktů, které obsahují PFAS [3].

Používání hasících pěn představuje největší riziko úniku PFAS do životního prostředí. Jejich aplikace může způsobit místní a přetrvávající znečištění podzemních a povrchových vod. Aby se zabránilo zbytečným únikům do životního prostředí, používají se při výcvikových cvičení nefluorované sloučeniny. Studie na bývalé letecké základně v Michiganu ukázala, že podzemní vody ze studní v okolí hasičských výcvikových prostor obsahují perfluorované organické sloučeniny (PFOS, PFHxS, PFOA a PFHxA). Byly nalezeny průměrné koncentrace 7,09 mg/l, a to pět nebo více let po posledním využití těchto prostor [15].

Při zemětřesení v Japonsku v září 2003 vzniklo velké množství požárů a na jejich likvidaci bylo použito nejméně 40 000 litrů hasících pěn s obsahem perfluorovaných sloučenin. Na odtoku vody se zjistilo 3669 ng PFOS/l, 149 ng PFHxS/l, 200 ng PFOSA/l, 300 ng PFNA/l, 162 ng PFOA/l a menší množství PFBS, PFUnA, PFDeA, PFHpA a PFHxA. Od října 2003 byly sledovány hladiny těchto látek ve vodách a sněhu v blízkém okolí. Od října do prosince se průměrná koncentrace PFOS snížila ze 42 ng/l na 4 ng/l.

Zvýšené koncentrace těchto látek byly pozorovány v efluentu čistírny odpadních vod ve srovnání s vodou, která do čistírny přitékala, což ukazuje na možnou přeměnu perfluorovaných látek přítomných ve vodním prostředí na PFOS [5, 16].

Ve vodovodní vodě dodané z osmi vodáren v Japonsku byly stanoveny hladiny PFOS v koncentracích 0,1 - 4 ng/l. Ve vodě dodané od jiné vodárenské společnosti, která získala surovou vodu ze znečištěné řeky, byly koncentrace PFOS přibližně 50 ng/l.

Tým vědeckých odborníků a vládních agentur stanovili jako bezpečnostní úroveň PFOA pro pitnou vodu na 150 µg/l.

Hansen a kol. zjišťovali hladiny PFOS a PFOA v řece Tennessee v Alabamě. Proti proudu naměřili koncentrace PFOS v rozmezí 17 až 54 ng/l a pro PFOA byly hladiny pod detekčním limitem, který byl ve výši 25 ng/l. Při odebrání vzorků vody ve směru proudu řeky zjistili koncentrace PFOS 114 ± 19 ng/l a 394 ± 128 ng/l PFOA [17].

V roce 2003 bylo v mořské vodě ze Severního moře, odebrané z hloubky 5 m na 15 lokalitách, sledováno sedm perfluorovaných sloučenin. U ústí řeky Labe byly nalezeny nejvyšší koncentrace, 20 ng/l pro PFOS a PFOA, zatímco hladiny ostatních zjištěných sloučenin (PFHxA, PFHxS, PFHpA, PFNA, PFDeA a PFOSA) se pohybovaly v rozmezí od 1-3 ng/l. Relativně vysoké hodnoty PFOA a PFOS byly nalezeny ve vzorcích z nizozemského a německého Waddensee (5 – 10 ng/l). V Labi byly koncentrace PFOS vyšší než PFOA; bylo prokázáno, že v mořské vodě tomu bylo naopak [18].

Další studie týkající se kontaminace vody perfluorovanými sloučeninami byly prováděny v rámci mezinárodního projektu. Za tímto účelem byly odebrány vzorky vody z Norska, Dánska, Švédska, Finska, Islandu a Faerských ostrovů. V mořské vodě byly zjištěny koncentrace 5,2 ng/l, v jezerní vodě 7,8 ng/l, v dešťové vodě 13,1 ng/l, v odpadní vodě 20,5 ng/l a 297 ng/l na skládkách odpadních vod.

2.3.1.3 Pedosféra

Zdrojem kontaminace půdy perfluorovanými sloučeninami je především mokrá a suchá atmosférická depozice, která je plošného charakteru. K dalšímu znečištění může dojít použitím kontaminovaných čistírenských kalů, které se přidávají do zemědělské půdy nebo použitím hasících pěn.

Vazba některých PFAS do sedimentů a kalů je velmi silná a stabilní, což znamená vysoký potenciál pro akumulaci.

U vzorků kalů z čistíren odpadních vod v Norsku, Dánsku, Švédsku, Finsku, Islandu a Faerských ostrovech byly sledovány perfluorované sloučeniny. PFOS byly dominantní látky v Dánsku, Norsku a Švédsku, zatímco hladiny PFOA byly nejvyšší na Islandu a Faerských ostrovech. Nejvyšší maximální hladiny PFOS byly nalezeny ve Švédsku (2644 pg/g), Dánsku (1041 pg/g) a Norsku (1023 pg/g). Sedimenty obsahovaly obecně nižší koncentrace než kal. Nejvyšší hladiny perfluorovaných látek 1150 pg/g byly zjištěny ve Finsku [20].

Screeningové studie ukázaly relativně vysoké nálezy PFOS ve švédských mokřadech (0,2 – 2,2 µg/l) [16].

2.3.1.4 Biosféra

Perfluorované látky se vyskytují ve všech organismech a na všech trofických úrovních. Zjištěná množství jsou obecně vyšší v horních úrovních potravinového řetězce. Schopnost bioakumulace a biokoncentrace je závislá na délce perfluorovaného řetězce a s jeho vzrůstající délkou se tyto schopnosti ještě zvětšují.

PFAS mají vysoký bioakumulační potenciál, a to v důsledku jejich vysoké stability. Vysoké hladiny PFAS byly nalezeny hlavně v játrech a plazmě volně žijících živočichů. Koncentrace v tukové tkáni jsou nízké vzhledem k lipofilním vlastnostem PFAS. Perfluorované sloučeniny se ukládají především v játrech, ledvinách, svalovině a dále jsou vázány na proteiny krevní plazmy (například albumin).

John P. Giesy a spol. podali, na Michiganské univerzitě první zprávy o globálním znečištění a široké distribuci PFOS u volně žijících živočichů. Zkoumali četnost detekce (detekční limit: 1 – 35 ng/g) a maximální koncentrace vybraných sloučenin v živočišných tkáních různých druhů vodních živočichů (tuleňů, vyder, lachtanů, delfínů, ledních medvědů, norků), ptáků, ryb a obojživelníků. Data nashromáždili v roce 1990 a zjišťovali koncentrace PFOS, PFOSA, PFHxS a PFOA (tabulka 7) [20].

Nejvyšší stanovené koncentrace PFAS ze skupiny savců byly naměřeny u delfína skákavého ze Severní Ameriky a u ledního medvěda z Arktidy. Delfíni často žijí v blízkosti průmyslových oblastí a mají relativně rychlý metabolismus těchto látek v krvi. Stejně jako u lidí není věk významným faktorem koncentrace těchto látek v krvi. Vysoké hladiny u polárních medvědů mohou být pravděpodobně vysvětleny jejich potravou, kterou tvoří kůže a vnitřní orgány tuleňů.

Tabulka 8 shrnuje výsledky výskytu PFOS z vybraných studií v živočišných maticích.

Tabulka 7: Maximální koncentrace (ng/g) a četnost detekce (%) v živočišných tkáních [20]

Živočišný druh	PFOS	PFOA	PFOSA	PFHxS
Mořští savci	1520 (77%)	41 (4%)	880 (15%)	86 (10%)
Norek a vydra	4900 (100%)	110 (11%)	680 (11%)	85 (10%)
Ptáci	2570 (60%)	440 (4%)	530 (10%)	185 (11%)
Ryby	1000 (38%)	46 (2%)	120 (9%)	20 (3%)

Na východu Kanady se ve směsi zooplanktonu našli koncentrace PFOS v rozmezí 1,1 – 2,1 ng/g a PFOA v rozmezí 1,7 – 3,4 ng/g. Koncentrační hladiny v krevetách ze stejné oblasti byly asi 5 krát nižší.

V červnu 2000 došlo na mezinárodním letišti v Torontu v Kanadě k náhodnému úniku 22000 litrů hasících pěn, které obsahovali perfluorované povrchově aktivní sloučeniny. Došlo ke kontaminaci zátoky (Etobicoke Creek) a tři týdny po nehodě bylo odchyceno 6 ryb

(*Notropus cornutus*) a byly analyzovány jejich játra. V játrech byly zjištěny koncentrace v rozmezí 2– 73 $\mu\text{g/g}$ perfluorovaných látek a to především PFOS. Dva vzorky obsahovaly malé množství PFBS ($< 0,009 \mu\text{g/g}$) a ve čtyřech vzorcích se našly PFHxS ($< 0,062 \mu\text{g/g}$). Celková hladina sedmi stanovovaných perfluorovaných karboxylových kyselin v játrech ryb se vyskytovala v rozmezí 0,07 - 0,40 $\mu\text{g/g}$, tj. tedy 100 krát nižší než hladiny PFOS. O půl roku později byly odchyceny a analyzovány další 3 ryby a u nich byly zjištěny koncentrace PFOS v rozmezí 9,2 - 40 $\mu\text{g/g}$. Nedošlo tedy k žádnému výraznému snížení [22].

PFOS byly také zjišťovány v ústřicích (*Crassostrea virginica*) shromážděných v letech 1996-1998 v 77 lokalitách v Mexickém zálivu a Chesapeake zálivu. V 51 lokalitách byly PFOS identifikovány a kvantifikovány v koncentracích od 42 do 1225 ng/g sušiny, s mediánem 387 ng/g sušiny [23]. Tabulka 8 zahrnuje údaje z vybraných studií zaměřených na koncentrace PFOS v různých živočišných vzorcích.

Tabulka 8: Zjištěné hladiny PFOS v živočišných vzorcích [5, 10, 24, 25, 26, 27, 28, 29]

Studie	Lokalita	Koncentrace (maximální a střední hodnota)
Celosvětový výzkum mořských savců (Florida, Kalifornie, Aljaška, severní Baltské moře, Arktida, ostrov Sable (Kanada))	Florida	Delfín, játra (n = 26) Max.: 1520 ng/g Střední 420 ng/g
	Severní Baltské moře	Tuleň, játra (n = 81) Max.: 1100 ng/g Střední 240 ng/g
Výzkum savců, ptáků a ryb v oblasti Kanadské Arktidy	Kanadská Arktida	Polární medvěd, játra (n = 7) Max.: >4000 ng/g Střední: 3010 ng/g
		Polární liška, játra (n = 10) Max.: 1400 ng/g Střední: 250 ng/g
Výzkum ryb (USA, Evropa, severní Tichý oceán, Antarktida)	Belgie – ústí řek do moře	Ryby, svalovina (n = 172) Max.: 923 ng/g Střední: 40 ng/g
	Velká jezera v USA	Kapr, svalovina (n = 10) Max.: 296 ng/g Střední: 120 ng/g
Výzkum ptáků žijících se rybami (USA, Baltské moře, Středozevní moře, japonské pobřeží, korejské pobřeží)	Středozápad USA	Orel holohlavý, plazma (n = 42) Max.: 2570 ng/g Střední: 520 ng/g
Výzkum norka a vydry říční (USA)	USA	Norek, játra (n = 77) Max.: 4870 ng/g Střední: 1220 ng/g
		Vydra říční, játra (n = 5) Max.: 994 ng/g Střední: 330 ng/g
Výzkum ústřic (záliv Chesapeake a Mexický záliv, USA)	USA	Ústřice, celé tělo (n = 77) Max.: 100 ng/g Střední: 60 ng/g
Vzorky ryb nad a pod areálem 3M v Decaturu, Alabama, USA	Decatur, USA	Ryba, celé tělo (n neuváděno) Střední (nad): 59,1 µg/g Střední (pod): 1332 µg/g
Městské vzorky ryb, Švédsko	Jezero Mälaren, Švédsko	Okoun (n neuváděno) 3 – 5 ng/g (městská oblast v blízkosti obecní čistíčky odpadních vod); 20 – 44 ng/g (jezero Mälaren)

n – počet vyšetřovaných vzorků

2.3.1.5 Výskyt perfluorovaných organických sloučenin u člověka

První zmínka o přítomnosti organických sloučenin fluoru v lidské krvi pochází z roku 1968, avšak příjem PFAS do lidského těla nebyl ještě definitivně vyřešen. Jisté však je, že ve vodě rozpustné PFAS jsou absorbovány prostřednictvím kontaminované pitné vody a kontaminovanou potravou. Vědci přinesli důkazy o PFAS kumulovaných v rybách, mase, mléčných výrobcích a rostlinách, které rostou na kontaminované půdě. Další studie uvádějí, že fluorované telomerní alkoholy mohou přejít z potravinářských obalů na potraviny. Například balíčky na popcorn mohou obsahovat až 25 mg fluorovaných telomerů na dm² papíru. Z kanadské studie shromážděné před rokem 2000 vyplynulo, že více než 55% potravinářských obalů obsahovalo N-EtFOSA (detekční limit: 10 pg/g). Nejvyšší hodnoty (23,5 pg/g) byly naměřeny v pizze.

Tabulka 9: Výskyt vybraných perfluorovaných látek u člověka [24, 25, 26]

Druh populace	Tkáň (počet vzorků)	Původ vzorku	Koncentrace PFOS ng/ml	Koncentrace PFOA (ng/ml)	Koncentrace PFOSA (ng/ml)
Muži	Sérum (332)	USA (2000 - 2001)	< 4,3 - 1656	< 1,9 - 29	n.d.
Ženy	Sérum (313)		6 - 226	< 2,1 - 52,3	n.d.
Muži	Krev (8)	Japonsko (2002)	2,4 - 14	n.d.	n.d.
Muži	Sérum (3)		19 - 41	n.d.	n.d.
Ženy	Krev (2)		9,1 - 11	n.d.	n.d.
Rodičky	Sérum (15)	Japonsko (2003)	4,9 - 17,6	< 0,5 - 2,3	< 1,0
Novorozenci	Sérum (15)		1,6 - 5,3	< 1,0	< 1,0
Muži	Sérum (8)	Itálie (2001)	< 1 - 8	< 3	< 1,3 - 1,7
Ženy	Sérum (42)		< 1 - 10,3	< 3	< 1,3 - 2,3
Ženy	Sérum (15)	Polsko (2003)	16 - 60	9,7 - 34	0,4 - 7,7
Muži	Sérum (10)		21 - 116	11 - 44	< 0,4 - 4,4
Ženy	Sérum (4)		4,9 - 19	< 1 - 7,6	< 3
Muži	Sérum (16)	Belgie (1998-2000)	4,5 - 27	1,1 - 13	< 3

Od roku 1993 bylo provedeno několik studií na výskyt PFAS ve tkáních a tělních tekutinách člověka. Olsen a spol. zveřejnili studie o hladinách PFOS a PFOA v játrech a v lidském séru u dělníků, kteří jsou v kontaktu s těmito sloučeninami; tyto hodnoty porovnávali s hladinami u běžné populace. Koncentrace PFOS a PFOA u exponovaných zaměstnanců byly v rozsahu 1 – 2 mg/l, což je asi 250 krát vyšší než koncentrace u široké veřejnosti. U lidí, kteří nebyli pracovním způsobem exponováni perfluorovanými látkami, nebyla prokázána souvislost mezi věkem a pohlavím a nalezenými hladinami PFOS [35, 36].

Ve vzorcích krve z Evropy, USA a z Asie byly identifikovány tyto polutanty; jejich koncentrace byly následující: PFOS (1 – 1600 µg/l) a PFOA (0,5 – 60 µg/l). Mnohem vyšší koncentrace byly prokázány v krvi jednotlivých zaměstnanců ve fluorochemických závodech v Nizozemsku a v USA (tabulka 9).

Bavorská studie zjistila 2,1 - 55 µg/l PFOS a 0,5 - 19,1 µg/l PFOA v krevní plazmě dospělých lidí, kteří nebyli výslovně vystaveni těmito látkám. Různé studie prokázaly, že u mužů se objevují vyšší koncentrace PFAS v krvi než u žen [22, 23].

Ve výzkumu v Arnsbergu byly stanoveny až osmkrát vyšší koncentrace PFOA v krvi osob, které konzumovali kontaminovanou pitnou vodu.

PFOS a PFOA jsou rovněž zjištělné v mateřském mléce. Jejich koncentrace představují však asi jedno procento z těch hodnot, které byly zjišťovány v krvi. Koncentrace PFOA leží většinou pod detekčním limitem. Nicméně pro děti to představuje riziko, které nelze ignorovat. Hodnota TDI (definuje přípustné množství denního příjmu PFOS a PFOA pro děti) byla stanovena na 0,1 µg/kg tělesné hmotnosti na PFOA a PFOS [23, 31].

Tittlemier a spol. studovali přítomnost perfluorovaných sloučenin v 23 vzorcích krevní plazmy u žen z Kanady. Průměrné hladiny byly pro hodnocené perfluorované sloučeniny následující: 36,9 ng PFOS/ml a 2,2 ng PFOA/ml. Všechny vzorky také obsahovaly PFNA (0,11-1,98 ng/ml), zatímco 70% vzorků obsahovalo zjištělné koncentrace PFHpA a pouze jeden vzorek obsahoval PFHxA. Hladiny v pupečníku byly o polovinu nižší než v krvi matky [32].

2.4 Toxikologické vlastnosti

2.4.1 Toxicita pro savce

Mechanismus toxicity perfluorovaných sloučenin není dosud přesně objasněn a studie se zaměřují zejména na PFOS a PFOA, které jsou nejvíce rozšířeny. Perfluorované sloučeniny mohou do organismu proniknout orální cestou, inhalací nebo v malé míře také dermální cestou. Co se týká PFOS, tak po vstupu do organismu dochází k adsorpci a jejich distribuci zejména do jater a tělních tekutin a posléze se vážou na proteinovou složku tkání. U potkanů bylo zjištěno, že se PFOA váže na makromolekuly, zejména na bílkoviny obsažené v játrech, plazmě a varlatech samců. Naopak PFOA není u člověka metabolizována v játrech, v plazmě, ani v ledvinách. Poločas odbourání z krevního séra člověka byl odhadnut v rozmezí 3,9 – 6,9 roku pro PFOS a od 3,1 do 4,4 roku pro PFOA. U jiných savců však byla pozorována rychlejší eliminace z těla. Odstraňování PFOA z krevního séra je ovlivněno hormony (estradiolem a testosteronem) a průběh je rychlejší u samic potkanů než u samců. Vylučování probíhá především močí a exkrementy. V případě lidského organismu se odhaduje, že polovina PFOS může být z těla vyloučena za necelých devět let a polovina PFOA během jednoho roku až tří let.

Délka alkylového řetězce a funkční skupiny hrají klíčovou roli v mechanismu toxicity. Prokázalo se, že kratší PFAS jsou méně toxické. PFDA (C₁₀) měl až 6krát nižší letální dávku (LD₅₀) než PFOA (C₈). Proto nejsou perfluorované sloučeniny se čtyřmi uhlíky považovány za škodlivé [33, 34].

Akutní toxicita

Akutní toxicita PFOS a PFOA nepředstavuje velké riziko. V tabulce 10 a 11 je shrnutá toxikologická data provedená na hlodavcích.

Tabulka 10: Akutní toxicita PFOS pro hlodavce [3]

Aplikace	Exponovaný druh	Výsledek
Orální	Potkani	LD ₅₀ = 251 mg/kg
	Potkani	1 h LC ₅₀ = 5,2 mg/kg
Podráždění očí	Králíci	Mírně dráždivý
Podráždění kůže	Králíci	Nedráždivý

Tabulka 11: Akutní toxicita PFOA pro hlodavce [3]

Aplikace	Exponovaný druh	Výsledek
Orální	Potkani	LD ₅₀ > 500 mg/kg (samci) LD ₅₀ (250 – 500) mg/kg (samice)
	Wistar potkani	LD ₅₀ < 1000 mg/kg (samice)
Inhalace	Potkani	1 h NOEC > 18,6 mg/l
Kožní	Králíci	LD ₅₀ > 2000 mg/kg
Podráždění očí	Králíci	Dráždivý
Podráždění kůže	Králíci	Nedráždivý

Chronická toxicita

Bylo zjištěno, že nižší dávky mají hepatotoxický, neurotoxický a imunotoxický efekt.

Goldenthal vystavoval opice po dobu 90 dnů dávkám perfluorovaných látek (0, 3, 10, 30 a 100 mg/kg/d), a to pomocí vyživovací sondy. Opice byly pozorovány 2krát denně a tělesná hmotnost byla zaznamenávána jednou týdně. Vzorky krve a moči byly odebírány jednou za jeden až tři měsíce pro klinické a hematologické studie a rozbor moči. Orgány a tkáně ze zvířat byly váženy a patologicky zkoumány.

Všechny opice, které byly vystaveny koncentracím 100 mg/kg/d, v průběhu studie uhynuly. První usmrcení se již ukázalo po prvním týdnu expozice a všechny opice zahynuly do pátého týdne.

Příznaky, které se objevily během expozice, zahrnovaly anorexii, zvracení, oteklé tváře a oči, sníženou pohyblivost, vyčerpání, třes těla, atrofii slinných žláz a pankreatu, pokles hladiny cholesterolu v krevním séru a úbytek tuku v nadledvinkách. Opice vystavené koncentracím 3 a 10 mg/kg/d během studie nezahynuly. U jedné opice (10 mg/kg/d) se po čtvrtém týdnu projevila anorexie, bledé a oteklé tváře byly zaznamenány v sedmém týdnu a černá stolice ve dvanáctém. Koncentrace 3 mg/kg/d způsobovaly jen občasné zvracení a průjmy.

PFOA a PFOS nejsou mutageny, to znamená, že nemají vliv na lidské genomy. Ani jedna z těchto sloučenin sama nereaguje s genetickým materiálem. Ve většině experimentů s krysami dochází k poškození genetické výbavy nepřímo prostřednictvím takzvaného "oxidačního stresu". Přestože "oxidační stres" může být účinně neutralizován v metabolismu, není jisté, že k němu dochází ve správném čase. Bylo prokázáno, že lidé reagují méně citlivě na oxidační stres než krysa.

Ačkoli fluorované látky nejsou mutagenní, PFOA indukuje rakovinu varlat, PFOS a EtFOSE vyvolávají u pokusných zvířat rakovinu jater. US EPA klasifikuje PFOA jako karcinogen pro zvířata.

Dvě studie rovněž uvedly, že u lidí přicházejících do styku s PFOS se zvýšil počet úmrtí na rakovinu močového měchýře a při styku s PFOA existuje vysoké riziko úmrtnosti na rakovinu prostaty [35, 36].

Perfluorované sloučeniny přestupují mozkovou i placentární bariéru a dostávají se z těla matky do plodu. Byly sledovány v krvi a pupečníku u 15 těhotných japonských žen. Koncentrace PFOS v krvi matek se pohybovala v rozmezí 4,9 až 17,6 µg/l, zatímco ty v pupečníku se pohybovaly od 1,6 až do 5,3 µg/l [37].

PFOS způsobují vývojové abnormality včetně snížení hmotnosti plodu, rozštěp patra, otoky, opožděné kostnatění kostí, srdeční abnormality.

PFOA mají za následek snížení hmotnosti plodů těhotných matek. Ostatní PFAS (PFBS a PFHxS), nemají významný vliv na reprodukci nebo vývoj, a to dokonce i při vysokých dávkách.

2.4.2 Toxicita pro vodní organismy

Toxicita pro vodní organismy několika PFAS byla zkoumána pomocí několika studií; pro její hodnocení byla použita klasifikace dle Van Rijna (tabulka 12).

Tabulka 12: Klasifikace toxikologických dat dle Van Rijna [5]

	Akutní toxicita (LC₅₀ v mg/l)	Chronická toxicita (LC₅₀ v mg/l)
Extrémně toxické	< 0,1	< 0,001
Vysoce toxické	< 1	< 0,01
Středně toxické	1 – 10	0,01 – 0,1
Mírně toxické	10 - 100	0,1 – 1
Téměř netoxické	> 100	> 1

Tabulky 13 a 14 udávají toxické účinky PFOS a PFOA ve vodním prostředí a tabulka 15 nejnižší koncentrace pro mořské organismy [2].

Tabulka 13: Nejnižší zjištěné koncentrace a NOEC u sladkovodních organismů pro PFOS

Toxicita	Typ organismu	Exponovaný druh	Doba testu	Výsledky (mg/l)
Akutní	Řasy	Zelená chaluha Selenastrum capricornutum	72 h	EC ₅₀ = 120
	Bezobratlí	Perloočky Daphnia magna	48 h	EC ₅₀ = 58
	Ryby	Pstruh duhový Onconhynchus mykiss	96 h	EC ₅₀ = 7,8
Chronická	Bezobratlí	Perloočky Daphnia magna	28 d	NOEC = 7
	Ryby	Střevle Pimephales promelas	42 d	NOEC = 0,3

Výsledky ukazují, že PFOS vykazují středně akutní toxicitu pro sladkovodní ryby a mírně akutní toxicitu pro vodní bezobratlé. Toxicita pro řasy je prakticky nulová a její výsledky byly založeny na rychlosti a intenzitě růstu.

Z hodnocení chronické toxicity PFOS vyplynulo, že ryby jsou mnohem citlivější na přítomnost této látky než bezobratlí a řasy. Při koncentraci PFOS 0,086 mg/l během 62 denní expozice ryb nebyl pozorován žádný nepříznivý účinek. U ryb byla však zaznamenána 100% úmrtnost při koncentraci 0,87 mg/l vody během 35 dní [5].

Tabulka 14: Nejnižší zjištěné koncentrace a NOEC u sladkovodních organismů pro PFOA

Toxicita	Typ organismu	Exponovaný druh	Doba testu	Výsledky (mg/l)
Akutní	Bakterie	Luminiscenční bakterie Photobacterium phosporeum	30 min	EC ₅₀ = 722
	Řasy	Zelená chaluha Selenastrum capricornutum	96 h	EC ₅₀ > 1000
	Ryby	Střevle Pimephales promelas	96 h	LC ₅₀ = 300
Chronická	Řasy	Zelená chaluha Selenastrum capricornutum	14 d	EC ₅₀ = 43
	Ryby	Střevle Pimephales promelas	30 d	NOEC > 100

Výsledky ukazují, že PFOA je na základě posouzení akutní, chronické a subchronické toxicity pro všechny testované sladkovodní organismy netoxická.

Tabulka 15: EC₅₀ a LC₅₀ pro mořské organismy

Typ organismu	Exponovaný druh	Doba testu	Výsledky (mg/l)
Řasy	Skeletonema costatum	96 h	EC ₅₀ > 3,2 - 120
Bezobratlí	Ústřice	48 h	EC ₅₀ = 58
Ryby	Střevle (Pimephales promelas)	96 h	LC ₅₀ >15

PFOS mají středně lehkou akutní a chronickou toxicitu pro mořské bezobratlé a nebyly pozorovány žádné nepříznivé účinky pro ryby ani řasy.

3 ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ PERFLUOROVANÝCH SLOUČENIN

Pokusy vyvinout instrumentální metody pro analýzu alkylovaných perfluorovaných látek byly ztíženy z důvodu jejich netěkavosti až do konce 90. let 19. století.

Analytická problematika perfluorovaných organických sloučenin se neustále vyvíjí a to nejen v důsledku modernizace přístrojové techniky, ale také v součinnosti s novými poznatky o chemických, toxikologických a biologických vlastnostech příslušného analytu.

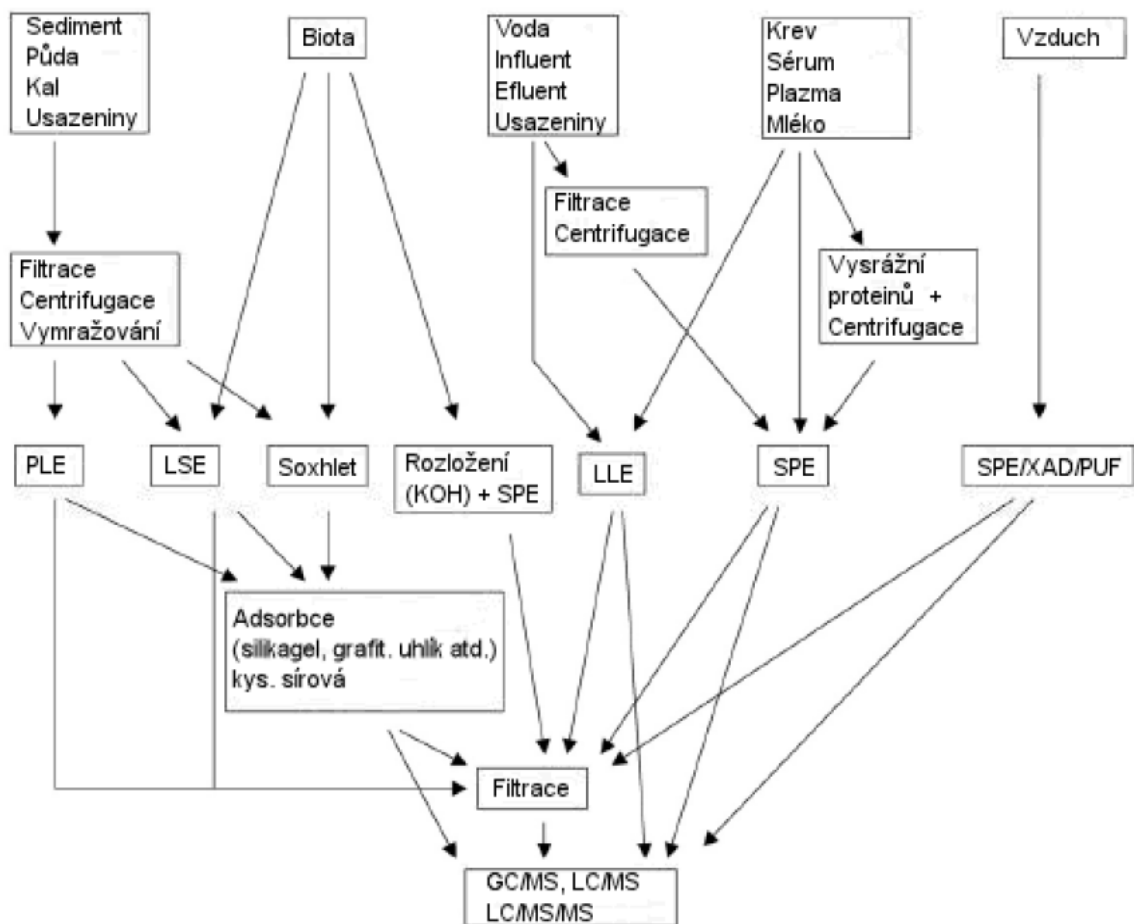
PFAS se jako celá řada environmentálních kontaminantů vyskytují ve vzorcích ve stopových koncentracích, což klade zvýšené nároky na analytické metody, a v souvislosti s přesností, citlivostí a selektivitou i na samotnou práci analytika.

Analytický proces stanovení PFAS ve vzorcích životního prostředí je tvořen následujícími kroky:

- odběr a uchování vzorku, jeho homogenizace a úprava před vlastním stanovením
- extrakce analytů ze vzorku
- přečištění vzorku (odstranění nežádoucích koextrahovaných podílů)
- frakcionace/separace sledovaných analytů
- identifikace a kvantifikace analytů

Před započítím analytické práce je třeba se vždy rozhodnout, co je cílem měření, jaké prostředky jsou k dispozici a jak spolehlivý výsledek je zapotřebí získat. Jedná se v podstatě o návržení vhodného analytického procesu, který vzhledem k záměru zajistí, aby nalezené hodnoty co nejlépe charakterizovaly skutečnost, kterou jsme si předsevzali prověřit. Několik druhů vzorků a jejich postupy při analýze jsou uvedeny na obrázku 5.

V současné stopové environmentální chemii je snaha používat takové postupy, které umožňují spolehlivé a rychlé stanovení sledovaných látek při co nejmenších finančních nákladech. Jednotlivé kroky analytického postupu uvádí tabulka 16. Při výběru a optimalizaci analytického postupu vhodného pro analýzu cizorodých látek v biotických materiálech jsou zohledňovány prakticky všechny uvedené charakteristiky a parametry, protože jsou sledována stopová až ultrastopová množství látek v poměrně komplikovaných maticích [38].



Obrázek 5: Schéma postupů při analýze PFAS z různých vzorků [7]

Tabulka 16: Parametry analytického postupu [38]

Analytický postup	Základní charakteristiky	Statistické parametry
Homogenizace materiálu a odběr vzorku	Dostatečné množství vzorku	Reprezentativnost vzorku
Úprava a navážka vzorku	Mechanická úprava materiálu, velikost navážky	Reprezentativnost vzorku, množství vzorku vzhledem ke koncentraci analytů
Izolace analytů		
Extrakce analytů	Způsob extrakce analytů	Dostatečná výtěžnost analytů
Zahuštění extraktu	Parametry čistící metody	Ztráta analytů
Čištění extraktu	Požadavek na čistotu extraktu	Výtěžnost čistícího postupu (ztráta analytů)
Zkoncentrování analytů	Potřebná koncentrace analytů pro instrumentální stanovení	Mez detekce a mez stanovitelnosti analytů
Instrumentální stanovení	Náročnost instrumentální koncovky	Přesnost a správnost stanovení
Výpočet výsledků	Metoda kvantifikace zjištěných analytů	Metoda vyhodnocení, určení statistických parametrů

3.1 Odběr a uchování vzorků

Odběr reprezentativního vzorku je považován za základní část celého analytického procesu. U látek typu POPs je situace komplikována právě jejich velmi nízkými koncentracemi v prostředí, což zvyšuje riziko ovlivnění výsledků stanovení z důvodu kontaminace vzorku při odběru, transportu a zpracování v laboratoři. Uvádí se, že více než 50 % celkové chyby analytického postupu je způsobeno především chybami vzorkování. Proto je nutné důsledně realizovat systém kontrolních vzorků (blanků), aby bylo možné eliminovat zdroje možných chyb na minimum.

Je důležité zajistit, aby zařízení pro odběr vzorků neumožňovalo adsorpci, absorpci, nebo ztráty při odpařování. Před odběrem se doporučuje vypláchnout vzorkovače semipolárními nebo polárními rozpouštědly jako jsou aceton, methanol, MTBE nebo deionizovaná voda [22,23]. Skleněné láhve se vypalují v peci při teplotě 450°C. Pokud vzorky nejsou analyzovány ihned, měly by být skladovány při teplotách okolo nula stupňů Celsia. Ukázalo se, že láhve z polypropylenu obsahují stopy PFOA a předčištění je velmi důležité pro očekávané koncentrace nižší než 10 ng/l [10]. Při vzorkování je nutné počítat s povrchově aktivním charakterem perfluoroalkylovaných látek, a to jak ionogenních, tak i neionogenních.

Méně pozornosti bylo věnováno na potenciální ztráty během skladování vzorků. Pokud možno, měly by být vzorky analyzovány přímo po odběru vzorků, ale toto není vždy proveditelné. Alternativně mohou být vzorky uchovávány před analýzou za podmínek, které brání změnám ve složení vzorku matrice a koncentrace PFAS.

Uchování vzorků je často prováděno skladováním v mrazících boxech nebo ledničkách. Vzorky vody bývají uloženy různě, počínaje uchováním při pokojové teplotě, v mrazu, skladováním v ledničkách a okyselením kyselinou mravenčí kombinovanou s uložením v ledničce. Druhá metoda snižuje pH na cca 2.

V reálných vzorcích může ztráta iontového charakteru (z důvodu spojení protonu) také vést k adsorpci na vzorkovnici. Proto je třeba se vyhnout okyselení vzorků vody pro skladování. Skladování vzorků vody v ledničce nebo mrazáku je pravděpodobně nejlepší alternativou [39]. Szostek a spol. zkoumali stabilitu FTOHs ve vodě a vodných vzorcích smíchaných s acetonitrilem. Zaměřili se na testování různých podmínek skladování v průběhu sedmidenního období a došli k závěru, že vodné vzorky mohou být bezpečně skladovány v mrazáku ve skleněné lahvi uzavřené septem a utěsněny hliníkovou folií. K biotransformaci PFAS může dojít u biologicky aktivních vzorků jako jsou odpadní kaly [7].

3.2 Izolace analytů ze vzorku (extrakce)

Účinná extrakce PFAS je rozhodujícím krokem při přípravě vzorků k analytickému stanovení. V následujícím textu jsou popsány metody extrakce, které byly používány při zpracování diplomové práce.

3.2.1 Sonikace

Při průchodu prostředím způsobuje ultrazvuk expanzi a stlačování molekul média. V kapalinách dochází při expanzi k vytvoření tlaku, který v nich podporuje vznik bublin a dutin. Samotný vznik těchto útvarů není pro vlastní využití ultrazvuku tak významný, protože

v nich nedochází k přenosu vlnění, ale důležitý je jejich zánik. Celý proces, kdy vznikají bubliny, rostou a posléze implodují, trvá asi 400 μ s. Protože bubliny a dutiny nemůžou účinně absorbovat ultrazvukovou energii, dochází k jejich implozi. Rychlé stlačení plynů a par uvnitř dutin způsobuje vznik volných radikálů a jiných sloučenin. Přítomnost pevné látky v kapalině při průchodu ultrazvukových vln způsobuje to, že rozpad bublin je v okolí pevné látky asymetrický, čímž v kapalině vzniká proudění. Tyto proudy jsou velice rychlé; tím, že naráží do pevné látky, umožňují průnik rozpouštědla do vzorku. Rychlost kapaliny, která přichází k povrchu pevné látky, může být až 400 $\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$ a proto je účinek na povrch látky velmi silný. V praxi se používají dva typy zařízení pro ultrazvukovou extrakci, a to ultrazvukové lázně a sondy [41].

3.2.2 Zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE, PSE)

Jedná se o techniku extrakce analytů z pevných nebo polopevných vzorků za použití organického rozpouštědla. Extrakce se provádí za zvýšené teploty a tlaku, což vede ke zkrácení doby extrakce a zvýšení extrakční účinnosti.

Extrakce pevných vzorků za zvýšené teploty je výhodná z několika důvodů. Rozpustnost analytů v extrakčním rozpouštědle vzrůstá se zvyšující se teplotou. Výsledkem je snížení objemu rozpouštědla nezbytného pro úplnou extrakci analytů z matrice vzorku. Navíc, zvýšená teplota extrakce zvyšuje rychlost extrakce, což vede k podstatnému snížení extrakčního času.

Zvýšený tlak při PSE je nutný, aby rozpouštědlo zůstalo i při zvýšené teplotě v kapalném stavu. Tím je umožněna extrakce rozpouštědlem za teplot podstatně vyšších, než je normální bod varu rozpouštědla za atmosférického tlaku.

Vysokotlaká extrakce rozpouštědlem se provádí v extraktoru one PSE v několika krocích. Nejdříve se vzorek umístí do nerezové extrakční patrony a ta se vloží do vyhřívaného extrakčního bloku (termostatu). Poté se termostat utěsněním extrakční patrony uzavře a do patrony se načerpá rozpouštědlo, které se ohřeje a natlakuje na pracovní podmínky. Extrakční podmínky teploty a tlaku jsou udržovány po zvolenou dobu (min) a pak je rozpouštědlo automaticky vypuštěno do sběrné nádoby (vialky). Extrakční patrona se následně vymývá čistým rozpouštědlem a poté dusíkem. Po ukončení extrakce se termostat otevře, vyjme se extrakční patrona a může se extrahovat další vzorek [42].

3.2.3 Extrakce na tuhém sorbentu (SPE)

SPE je technika přípravy vzorků, jejíž význam neustále roste. Při použití SPE se lze vyhnout řadě problémů, které jsou již tradičně spojovány s další metodou přípravy vzorků, kterou je extrakce kapalina-kapalina. Nejdůležitější výhodou vzhledem k extrakci kapalina-kapalina je snížení spotřeby organických rozpouštědel.

SPE je nejčastěji používána při zpracování kapalných vzorků, především pro extrakci středně těkavých a netěkavých látek, jejich zakoncentrování a odstranění nežádoucích látek, rušících následná analytická stanovení.

Princip sorbce je obdobný jako u kapalinové chromatografie, a také nabídka sorbentů je široká. Nejdůležitějším krokem je volba správného sorbentu. Metoda je rychlá, přesná,

reprodukovatelná. SPE umožňuje současné zpracování 12, 24 až 96 vzorků a metodu je možné i automatizovat.

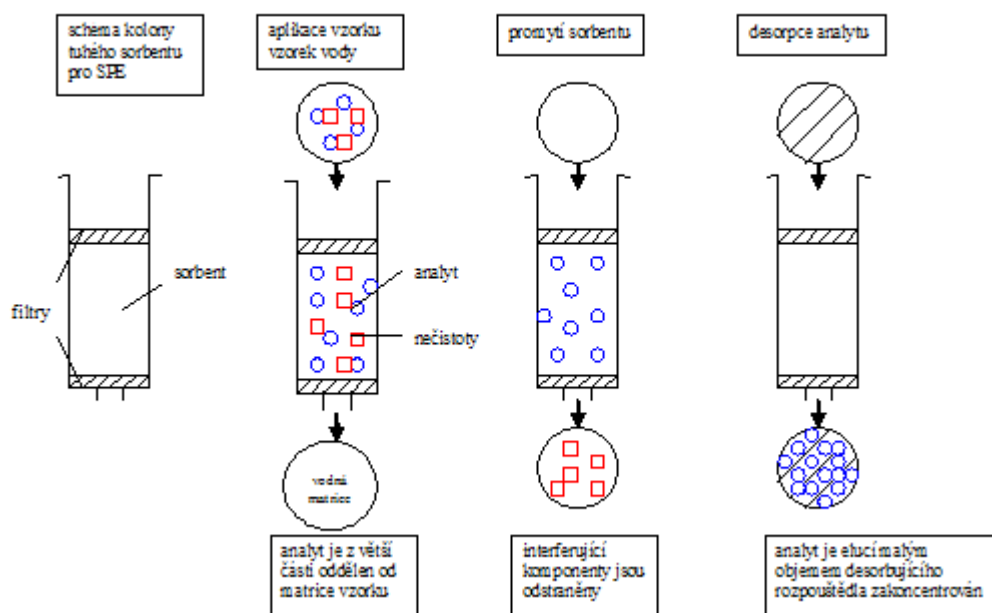
Principem metody je selektivní zadržování skupiny látek, nejčastěji organických molekul na pevné fázi, která je umístěna ve formě sloupce nebo membrány v krátké kolonce, tzv. cartridge. Postup extrakce na tuhé fázi je znázorněn na obrázku 6.

Provedení SPE se skládá z pěti kroků:

1. předúprava (kondicionování) kolonky
 - kolonka se propláchne předepsaným rozpouštědlem (aktivace pevné fáze pro interakce se vzorkem) a následně rozpouštědlem podobným vzorku (úprava prostředí pro vlastní vzorek)
2. dávkování vzorku
 - žádaná skupina látek se selektivně sorbuje a nesorbované látky (matrice) procházejí volně kolonkou
3. promývání
 - propláchnutí kolonky vhodným rozpouštědlem vede k vymytí zbytků matrice vzorku z kolonky; žádané látky zůstávají sorbovány na pevné fázi.
4. sušení
 - pokud se eluční rozpouštědlo výrazně liší od promývacího roztoku, kolonku je třeba vysušit proudem inertního plynu
5. eluce (vymývání)
 - kolonka se promývá elučním rozpouštědlem, dochází k selektivní desorpci žádaných látek z pevné fáze a k jejich vymytí z kolonky. Eluát se jímá a dále upravuje, např. pro chromatografickou analýzu.

Úspěšné použití SPE kolonek závisí na důkladném provedení všech kroků extrakce.

K extrakci tuhým sorbentem lze použít statické uspořádání (míchání roztoku analytu se sorbentem a odfiltrování sorbentu) nebo dynamické. Při dynamickém uspořádání protéká roztok vzorku přes sorpční kolonku malých rozměrů, která obsahuje určité množství vhodného sorbentu. Průtok vzorku je umožněn buď gravitací, čerpadlem, injekční stříkačkou nebo připojeným vakuem [43,44].



Obrázek 6: Postup extrakce na tuhém sorbentu

3.2.4 Voda

Vzhledem k odlišné polaritě perfluorovaných sloučenin je zapotřebí využít různé extrakční techniky. V případě velmi zředěných vzorků je nezbytné jejich zakonzentrování. Nejvíce využívané techniky jsou extrakce kapalina-kapalina (LLE) a extrakce na tuhou fázi (SPE). Ionogenní látky PFCA_s a PFSA_s vyžadují pro efektivní zachycení ve vodě rozpustných sloučenin středně polární média (Oasis WAX SPE, methanol, acetonitril), a to především pro látky s krátkými řetězci (C₄-C₆). Pro delší řetězce a neionogenní látky se používají nepolární média (SPE-C₁₈ a Oasis HLB, MTBE, hexan) nebo směs hexan-aceton.

SPE kolony se používají hydrofobní (C₁₈, pro zachycení PFAS s delšími řetězci), směsné hydrofobní/polární (např. Oasis HLB) a slabé aniontoměničové (WAX; pro zachycení iontových PFAS a čtyř až šesti uhlíkatých PFAS).

Taniyashu a kol. hodnotili vhodnost kolon Oasis HLB a Oasis WAX pro extrakci PFAS. Obecně lze říci, že výkonnost těchto kolon byla srovnatelná. Výtěžnost byla u většiny sloučenin 70-100%. Ztráty mohly být způsobeny odpařováním během analýzy nebo vlivem adsorpce vzorku na povrch PP vzorkovnic [45].

Gonzalez-Barreiro a spol. hodnotili tři extrakční rozpouštědla (n-hexan, MTBE a trichlormethan) pro LLE. Trichlormethan a n-hexan přinesly pro většinu analytů velmi nízké výtěžnosti, kromě PFDS a PFOSA. MTBE byl považován za nejlepší extrakční činidlo, ale pro lepší účinnost byl přidán chlorid sodný (50 g/l) a kyselina sírová pro okyselení roztoku na pH = 4 [46].

Extrakce aniontových PFAS může být provedena jako ion-párová extrakce při použití tetrabutylového nebo tetrapropylamoniového kationtu. Extrakci lze podpořit také okyselením, kdy je zapotřebí zabránit disociaci kyseliny.

3.2.5 Půdy, sediment a odpadní kal

K extrakci analytů z pevných abiotických matric se nejčastěji používá zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE, PSE), sonikace, Soxhletova extrakce, extrakce teplou párou a extrakce kapalinou (LSE).

Extrakce kapalinou (PLE) je dosti využívaná metoda. Analyt z tuhého vzorku je selektivně extrahován do vhodného rozpouštědla. Pro perfluorované organické sloučeniny je v nejméně studiích využívána metoda vyvinutá Powleyem a kol. K 5g vzorku se přidají 2 ml 200 mM vodného roztoku NaOH a 30 minut se třepe. Poté se do směsi přidá 20 ml MeOH a dále se třepe 30 minut. Extrakt se následně zneutralizuje přídavkem HCl a oddělí se centrifugací [40].

Sonikace patří mezi další vhodné způsoby využívané pro extrakci perfluorovaných látek. Na vzorek s rozpouštědlem se působí ultrazvukem podle následujícího postupu. K 1 g homogenizovaného vzorku se přidá 10 ml 1% kyseliny octové. Směs se vloží do ultrazvukové lázně a provádí se extrakce, a to při teplotě 60°C po dobu 15 minut. Poté se roztok centrifuguje a dekantuje a přidá se 2,5 ml extrakční směsi MeOH a 1% kyseliny octové (90:10). Znovu se provádí sonikace a celý postup se 2-3x opakuje, aby se získalo co nejméně všech extrahovatelných perfluorovaných látek (po třech opakováních se získá více jak 95% všech extrahovatelných látek). Nakonec je nutné extrakt přečistit pomocí SPE a následuje analýza pomocí LC-MS/MS.

Zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE, PSE) je technika vhodná pro extrakci analytů z tuhých nebo polotuhých vzorků organickým rozpouštědlem. Extrakce probíhá při zvýšené teplotě a tlaku, čímž se snižuje extrakční čas i náklady a výrazně se zvyšuje extrakční účinnost. Pro stanovení PFAS má tato metoda jednu nevýhodu, a to, že přístroje pro PSE obsahují teflonové součásti, které mohou kontaminovat vzorek. Je tedy nezbytné tyto teflonové části nahradit nerezovými [7].

Schröder při analýze čistírenských kalů dospěl k závěru, že PLE pomocí extrakční směsi o složení methanol-kyselina fosforečná je neúčinnější [7].

Alzaga a kol. testovali PLE s různými rozpouštědly, přičemž nejlepších výsledků dosáhli s použitím extrakční směsi aceton/MeOH (1:3) [7].

PLE s MeOH, v návaznosti na ultrazvukovou extrakci, byl použit pro stanovení PFAS v sedimentech. Jako rozpouštědlo se používá roztok octanu amonného. Před analýzou je potřeba extrakt přefiltrovat.

De Voogt a kol. použili ultrazvukovou extrakci s MTBE pro získání PFOA a PFOS z mořských a sladkovodních sedimentů [1].

Higgins a spol. vyvinuli metodu založenou na homogenizaci a následném promývání kyselinou octovou. Následuje opakovaná extrakce okyseleného sedimentu nebo kalu za použití následující směsi (90:10 methanol:1% kyseliny octové). Další čištění vzorku bylo provedeno pomocí SPE kazet C₁₈, které byly proplachovány methanolem [47].

Přečištění extraktu

Extrakt se ve vakuové odparce odpaří do sucha a odparek se rozpustí v 5 ml MeOH. Poté se k roztoku přidá 4 ml směsi H₂O₂ a H₂SO₄ (1:1), nebo 4 ml HCl a HNO₃ v poměru 3:1.

Oxidace probíhá při teplotě 50°C po dobu 30 minut a následně se upraví pH na hodnotu 6 přidávkem NaOH. Analyty se zakoncentrují na SPE koloně (C₁₈) a eluují se methanolem

3.2.6 Biologický materiál

Koncentrace PFAS v biotických matricích se značně liší podle druhu vzorku a lokality. Pro zacházení s biotickými vzorky platí stejné zásady, jako pro vzorky vody a pevných abiotických matric.

Pro extrakci kapalných vzorků jako je krev, krevní plazma a mléko, se používají metody extrakce kapalina-kapalina (LLE) a extrakce na tuhou fázi (SPE). Pro extrakci pevných matric se aplikují techniky extrakce kapalinou (LSE), Soxhletova extrakce a vyluhování s KOH + SPE [7].

Belisle a Hagen vyzkoušeli metodu založenou na okyselení krve, moči nebo zhomogenizované jaterní tkáně a následné extrakci PFCA se směsí hexan : diethylether (8:2). Extrakt byl poté methylován a následovala analýza pomocí GC s detektorem elektronového záchytu. Tento postup vykazoval dobré výsledky jen pro kyseliny s osmi atomy uhlíku; pro C₁₀ byla výtěžnost 40% a pro C₁₂ nižší než 10% [7].

Ylinen a spol. představili alkalické ion-párové extrakce pomocí kvartérních amoniových iontů. Tito autoři použili tetrabutyl (TBA) hydroxidu sodného jako ion-párového činidla při pH 10 a ethylacetátu jako extraktu. Hansen a kol. tento způsob později upravili pro analýzu na LC-MS/MS pomocí MTBE jako extrakčního činidla [7].

Heuvel a kol. izolovali PFCA z biologického vzorku pomocí dělení fází. Ukázali, že okyselení kyselinou sírovou v solném roztoku je nezbytné pro extrakci z tkáně. Vzorky byly čištěny na silikagelových kolonách a byly promývány směsí diethylether : trifluoroctová kyselina (100:1) [7].

Ohya a kol. použili ion-párovou extrakci s TBA pro získání PFCA (C₆-C₁₀) pomocí směsi ethylacetát : hexan (1:1) z jaterní tkáně. Následovala derivatizace s 3-bromo-acetyl-7-methoxykumarinem a analýza pomocí LC-MS [7].

Analýza PFAS ze vzorků krve může být provedena po okyselení kyselinou mravenčí a následné SPE na C₁₈. Jako analytická koncovka se používá převážně LC-MS a mez detekce se pohybuje od 0,1 - 0,5 ng/ml.

Mnozí autoři upřednostňují použití ion-párových činidel od Hansena a kol. použitím MTBE jako extrakčního rozpouštědla.

Berger a Hauka vyvinuli screeningovou metodu pro analýzu PFAS ve vzorcích jater. Metoda je založena na extrakci ultrazvukem a jako rozpouštědlo se používá 2mM octan amonný ve směsi MeOH : H₂O (50:20). Potom se musí extrakt přefiltrovat přes Kleenex filtrační papír a Microcon YM-3 centrifugační filtr. Tato metoda závisí na matici vzorku a vnitřním standardu a není moc vhodná pro méně polární perfluorované sloučeniny (PFDS, PFC₁₁₋₁₄A, PFOSA). Naopak mezi její výhody patří úspora času a nákladů a jednoduchá manipulace se vzorkem [1, 7].

3.3 Analytická koncovka stanovení PFAS

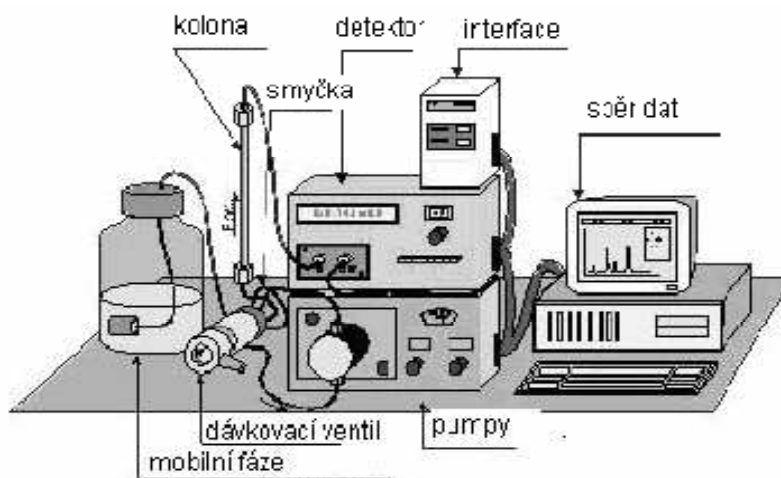
Analytické metody pro identifikaci perfluorovaných sloučenin jsou následující:

- Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)
- Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s fluorescenčním detektorem (HPLC-FD)
- Vysokoúčinná kapalinová chromatografie v tandemu s kvadrupólovým průletovým hmotnostním analyzátozem (HPLC – QTOF)
- Tandemová hmotnostní spektrometrie s elektrosprejem (ESI-MS)
- Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID)
- Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS)
- Plynová chromatografie s fotoionizačním detektorem (GC-PID)
- Plynová chromatografie s detektorem elektronového záhytu (GC-ECD).

3.3.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie patří mezi analytické separační techniky a slouží k separaci široké škály analytů. Tato metoda zaznamenala největší vzestup v polovině sedmdesátých let dvacátého století. Princip této metody spočívá v distribuci analytů mezi dvě fáze, ke kterým mají analyty různou afinitu. Jednou z fází je stacionární fáze, která bývá nejčastěji zakotvena na pevném nosiči uvnitř chromatografické kolony a druhou fází je mobilní fáze, která je pod vysokým tlakem protlačována pomocí vysokotlaké pumpy. Na rozhraní obou fází dochází neustále k adsorpci a desorpci analytů, což je hlavním hnacím mechanismem separačního procesu [48].

Základní zařízení pro kapalinovou chromatografii je tvořeno pumpou, kolonou, detektorem, odplyňovačem mobilní fáze, nádobou na mobilní fázi, termostatem, septem pro nástřik vzorku, dávkovacím zařízením a vyhodnocovacím mechanismem, kterým je nejčastěji PC (obrázek 7).

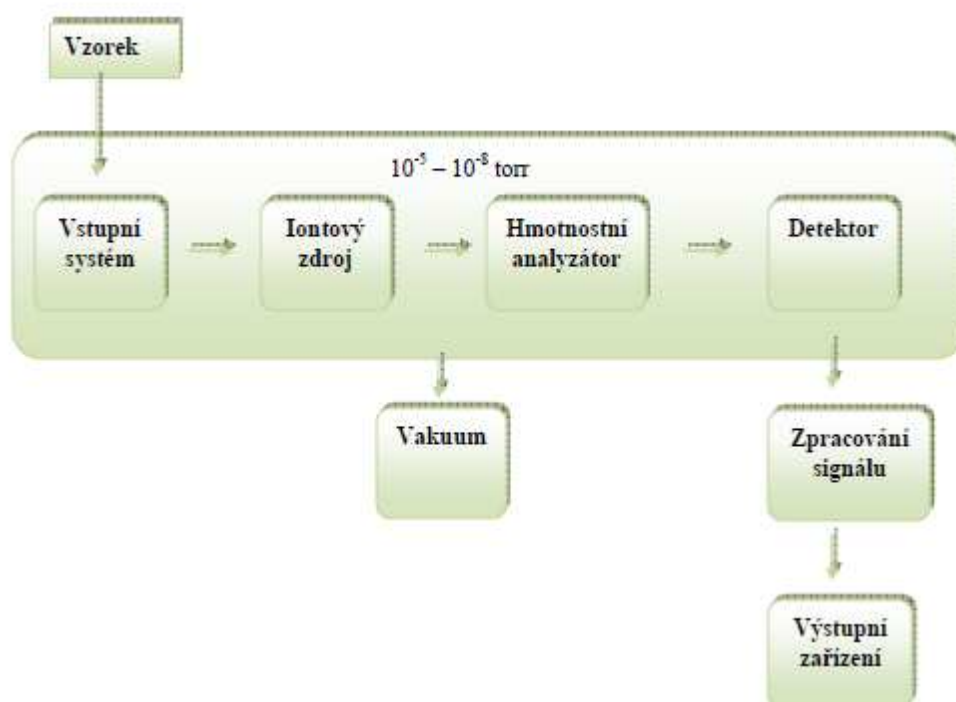


Obrázek 7: Schéma kapalinového chromatografu [48]

3.3.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je separační fyzikálně-chemická metoda vhodná k určování hmotnosti atomů, molekul a jejich částí převedením na kladné nebo záporné ionty. Hmotnostní spektrum je záznam iontů vzniklých ze zkoumaného vzorku, uspořádaný podle vzrůstajícího poměru hmotnosti k náboji (m/z), vyneseny proti absolutnímu nebo relativnímu zastoupení jednotlivých iontů.

Základními součástmi každého hmotnostního spektrometru je iontový zdroj (generování iontů ze sledovaných atomů nebo molekul), analyzátor (separátor) iontů (separace iontů podle jejich poměru hmotnosti k náboji m/z ; u iontů s jednotkovým nábojem podle jejich hmotnosti) a detektor (detekce zastoupení každého druhu rozdělených iontů; obrázek 8) [49].



Obrázek 8: Schéma hmotnostního spektrometru [51]

3.3.3 Spojení HPLC-MS

Spojením vysokoučinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS) vznikla metoda, která umožňuje získat cenné informace o molekulových hmotnostech, případně i o struktuře látek s vyššími molekulovými hmotnostmi, větší polaritou nebo menší tepelnou stabilitou, než mají sloučeniny analyzované plynovou chromatografií.

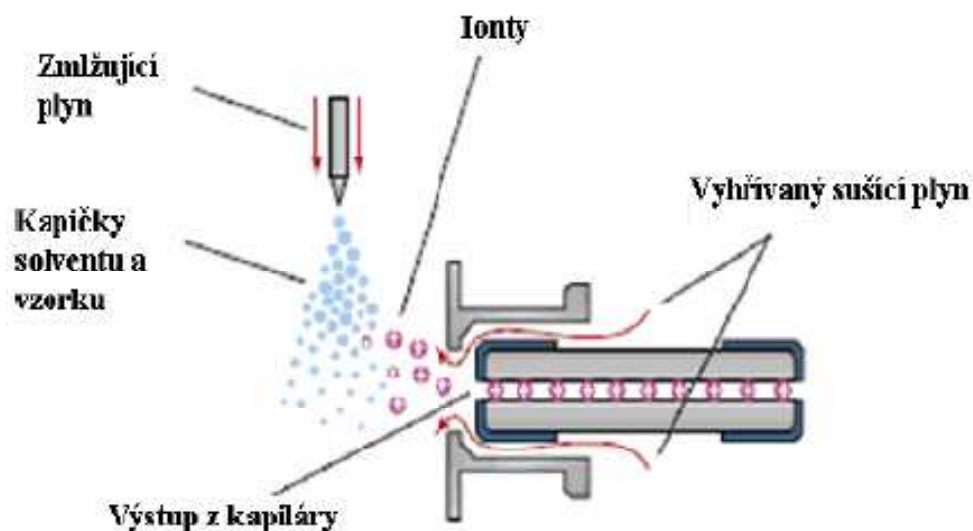
Při spojení LC/MS je jedním z největších technických problémů kompatibilita průtoků mobilní fáze z kapalinového chromatografu. Do iontového zdroje hmotnostního spektrometru vstupuje řádově větší počet molekul než při zavádění plynné fáze jako je tomu v případě GC/MS. Přechod k vysokému vakuu, ve kterém přístroj pracuje, je tak obtížnější. Rozdíl tlaků mezi kapalinovým chromatografem a hmotnostním spektrometrem je osm až deset řádů [48].

V posledních letech byly navrženy speciální ionizační techniky pro spojení hmotnostní spektrometrie s HPLC (termsprej, elektrosprej, chemická ionizace za atmosférického tlaku), které patří mezi tzv. „měkké“ ionizační techniky.

Výhodou měkkých ionizačních technik je možnost určení molekulové hmotnosti i pro látky, které např. při elektronové ionizaci molekulární ion neposkytují. U měkkých ionizačních technik vzniká molekulární ion protonací, resp. kationizací molekuly, čímž vznikají ionty se sudým počtem elektronů. V hmotnostních spektrech jsou většinou intenzivní píky molekulových iontů nebo jejich aduktů. U ionizačních technik TSI a APCI lze pracovat s průtoky mobilní fáze až do 2ml/min, u ESI se optimální účinnost pohybuje při průtoku 1-100 μ l/min. Pokud je průtok mobilní fáze vyšší, lze použít tzv. splitter (dělič toku). Pro HPLC separaci s reverzní fází je vhodné jako ionizační techniku použít ESI, TSI. Pro separaci normálními fázemi je nejvhodnější APCI.

Ionizace elektrosprejem (ESI)

Při ionizaci elektrosprejem (obrázek 9) prochází eluát po výstupu z chromatografické kolony kapilárou, na kterou je vloženo vysoké napětí (3-5 kV), takže malé kapičky vznikající na výstupu z kapiláry nesou vlivem vysokého gradientu elektrického pole kladný nebo záporný náboj podle polarit vložení napětí na kapiláru. Dalším odpařováním rozpouštědla dochází ke zmenšení velikosti kapiček a tím i ke zvýšení hustoty povrchového náboje, až dojde k rozpadu na menší kapičky a nakonec se uvolní protonovaný molekulární iont $[M+H]$ nebo adukt molekuly se sodným iontem $[M+Na]$ při snímání kladných iontů, resp. deprotonovaný molekulární iont $[M-H]$ při snímání záporných iontů. Fragmentové ionty bývají většinou málo intenzivní nebo zcela chybí. Modifikace elektrospreje nazvaná iontový sprej používá pro snadnější zvládnutí eluátu pneumatický zmlžovač na konci kapiláry [48,50].

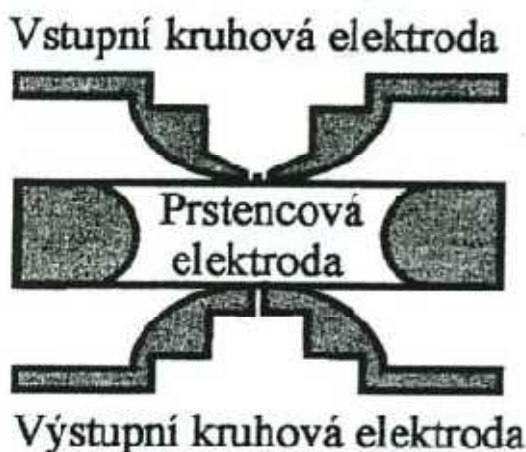


Obrázek 9: Iontový zdroj elektrospreje

Ve spojení s kapalinovou chromatografií se nejčastěji používají kvadrupólové analyzátory nebo analyzátory s iontovou pastí. Výhodou analyzátoru s iontovou pastí je možnost MS_n analýzy v jednom analyzátoru. Další výhodou těchto dvou analyzátorů je nižší potřebné vakuum ve srovnání s magnetickým analyzátozem. Ve spojení LC/MS se příliš nepoužívá průletový analyzátor (TOF), a to zejména vzhledem k offline spojení těchto dvou technik. Předností tohoto analyzátoru je vysoká rychlost skenování a největší rozsah měřených hmot všech analyzátorů ($M_R > 10^6$) [48].

Iontová past (IT)

Iontová past je trojrozměrnou obdobou kvadrupólového analyzátoru a umožňuje pomocí střídavého elektrického pole uzavřít ionty v ohraničeném prostoru. Tvoří ji uzemněné vstupní a výstupní kruhové elektrody hyperbolického průřezu a prstencové středové elektrody, na které se přivádí vysokofrekvenční napětí s proměnnou amplitudou. Nejprve jsou otvorem ve vstupní kruhové elektrodě přivedeny do iontové pasti molekuly analyzované látky a následně dochází k ionizaci pulsem elektronů. Další možností je ionizace v externím iontovém zdroji, takže do vnitřního prostoru iontové pasti je analyzovaná látka přivedena už v ionizovaném stavu. Během doby, kdy se na středovou prstencovou elektrodu přivádí střídavé napětí o malé amplitudě a ionty v širokém rozsahu hmotností se udržují na stabilních uzavřených drahách, je možno akumulovat dostatečné množství iontů v prostoru iontové pasti. Následně je zvyšována amplituda střídavého napětí. S její rostoucí hodnotou jsou postupně ionty s rostoucím m/z vypuzeny z pasti a přes otvor výstupní kruhové elektrody jsou vedeny do detektoru. Dříve se iontová past využívala hlavně ve spojení GC/MS při analýzách stopových množství organických látek. Dnes, díky konstrukčnímu vývoji, je těžištěm jejího využití kombinovaná technika LC/MS, a to i pro analýzy vysokomolekulárních látek [50].



Obrázek 10: Průřez iontovou pastí

3.3.4 Vlastní stanovení PFAS metodou LC-MS

Pro konečnou analýzu perfluorovaných sloučenin se nejčastěji používá kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií LC-MS nebo s tandemovou hmotnostní spektrometrií LC-MS/MS. Pro ionizaci PFAS v hmotnostním spektrometru je nejvhodnější ionizace elektrosprejem v negativním módu (ESI(-)). Jako sušící plyn se používá dusík a jako kolizní plyn argon. Pseudomolekulární ionty jsou tvořeny jako $[M-K]^-$ pro PFOS (m/z 499), $[M-H]^-$ pro PFOA (m/z 413) a FOSA (m/z 498). Mezi další často používané způsoby ionizace patří chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI).

Pro separaci perfluorovaných látek lze doporučit vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii na obrácené fázi (RP-HPLC). Nejčastěji se používá nepolární stacionární fáze se skupinami C_{18} , avšak také je možné využití fáze se skupinami C_8 a perfluorovanými C_8 skupinami [54, 55].

Pro separaci PFAS s různými délkami řetězce je vhodná kolona se stacionární náplní C_{18} o rozměrech (50 mm x 2,1 mm; 5 μ m). Nástřík vzorku je 10 μ l a elučním činidlem je směs methanol/2mM vodný roztok octanu amonného. Další kolona vhodná pro separaci PFAS je C_{18} (150 mm x 3 mm; 5 μ m) a mobilní fáze má toto složení; acetonitril/26 μ M ledová kyselina octová v poměru 60:40.

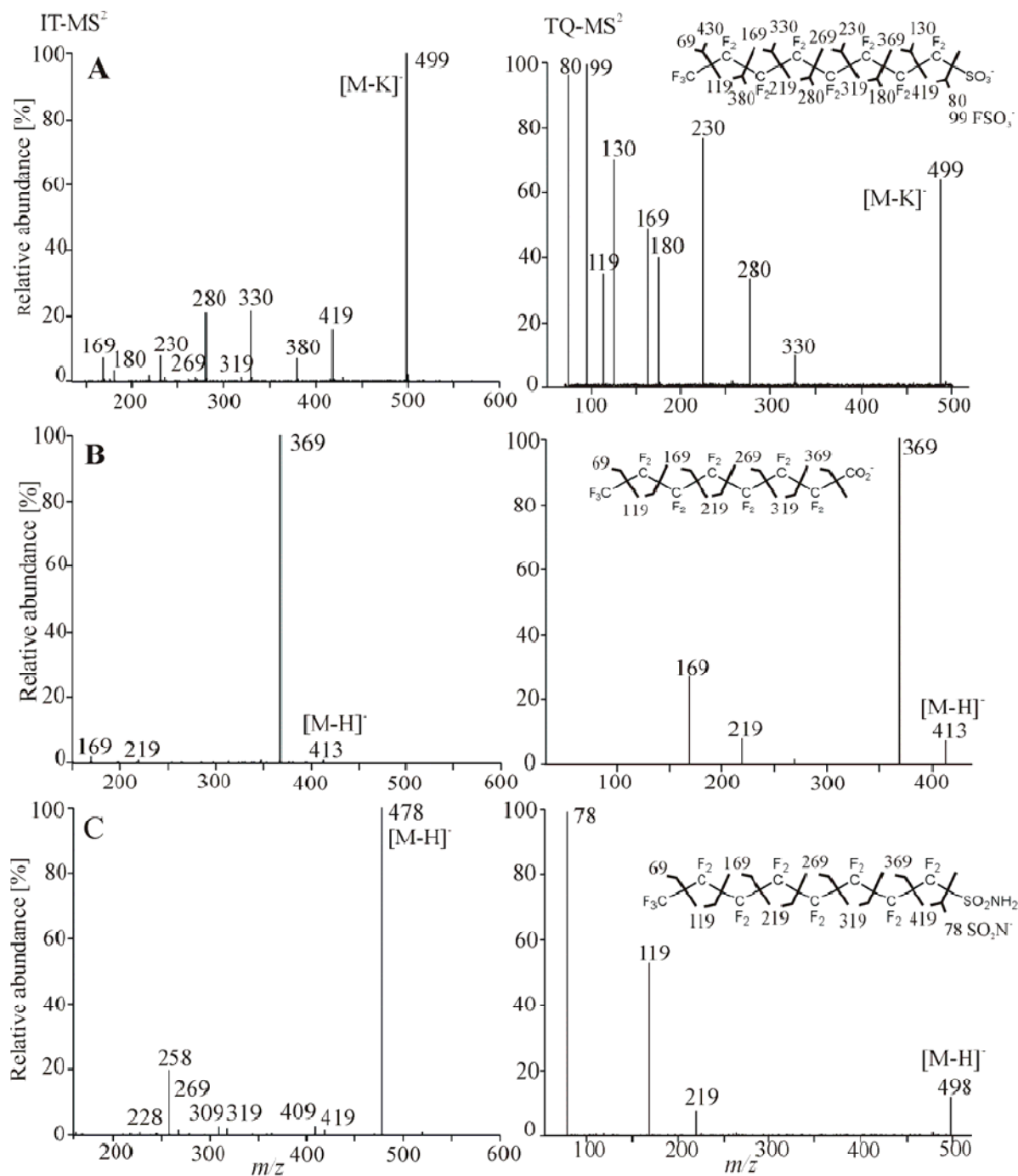
Pro separaci PFCA s dlouhými řetězci byla rovněž použita kolona C_{18} (100 mm x 2,1 mm; 5 μ m) a mobilní fáze měla následující složení: acetonitril/2mM vodný roztok octanu amonného. Naopak pro kratší PFCA byla použita RP C_{12} (50 mm x 2 mm; 5 μ m) s mobilní fází methanol/2mM vodný roztok octanu amonného.

Množství nadávkovaného vzorku, průběh eluce (isokraticky nebo s použitím gradientu) a průtoková rychlost kolonou se liší v rámci různých studií.

Kvantitativní analýza stopových kontaminantů ve složitých matricích vyžaduje značnou selektivitu a citlivost. MS detekce nabízí obojí. Vysoká selektivita může být dále zlepšena využitím tandemové MS/MS detekce. I. Langlois porovnával účinnost iontové pasti (IT) a trojitého kvadrupólu (TQ) (tabulka 17, obrázek 11). Z výsledků této studie vyplývá, že trojitý kvadrupól MS v MRM módu je nejvhodnější technikou pro stanovení stopových množství PFAS ve vzorcích životního prostředí. Vyniká vysokou citlivostí a selektivitou. Na obrázku 11 jsou znázorněna hmotnostní spektra při použití TQ a IT [50].

Tabulka 17: Detekční limity (LOD, signál:odezva 3:1) a lineární rozsah vybraných PFAS stanovených pomocí iontové pasti MS v plném režimu skenování a trojitého kvadrupólu v ion monitoring režimu (SIM). MRM režim byl použit pro oba analyzátory.

	Iontová past		Trojitý kvadrupól	
	Plný režim	MRM	SIM	MRM
PFHA	313	313→269	313	313→269
LOD (pg)	50	2000	15	50
Lineární rozsah (ng)	0,15-2,5	8-100	0,05-3	0,2-25
PFHS	399	399→99	399	399→99
LOD (pg)	20	2500	2,5	50
Lineární rozsah (ng)	0,08-2,5	10-100	0,03-2	0,5-25
PFOA	413	413→369	413	413→369
LOD (pg)	100	4000	15	100
Lineární rozsah (ng)	0,3-2,5	15-150	0,05-2,5	0,3-20
PFOS	499	499→99	499	499→99
LOD (pg)	25	5000	5	150
Lineární rozsah (ng)	0,08-2,5	15-100	0,02-3	0,5-20
PFDA	513	513→469	513	513→469
LOD (pg)	150	5000	20	100
Lineární rozsah (ng)	0,3-3	15-500	0,08-4	0,5-20
PFDS	599	599→99	599	599→99
LOD (pg)	50	6000	5	100
Lineární rozsah (ng)	0,1-2	10-500	nestanovené	nestanovené
PFOSA	498	498→98	498	498→98
LOD (pg)	50	5000	10	100
Lineární rozsah (ng)	0,15-2,5	15-100	0,1-4	0,3-25



Obrázek 11: ESI(-)IT-MS/MS (vlevo) a TQ-MS/MS (vpravo) spektra pro PFOS (A), PFOA (B) a PFOSA (C).

Tabulka 18: Přehled analytických metod PFAS

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

Tabulka 19: Pokračování

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

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Používané přístroje, zařízení a software

4.1.1 Zařízení pro přípravu a extrakci vzorků

- Analytické váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko
- Ultrazvuková lázeň, typ Teson 4, Tesla, Česká republika
- Zařízení pro SPE extrakci Baker SPE-12G, s vakuovou pumpou Barmany, Co., USA
- Přístroj pro extrakční techniku PSE: *onePSE*, Applied Separations, USA
- Přístroj EVATERM pro sušení pod dusíkem, Labicom, Česká republika
- Zařízení pro přípravu MilliQ vody Millipore QGARD
- Běžné vybavení analytické laboratoře

4.1.2 Kapalinová chromatografie

- Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series:
 - Vakuová odplyňovací jednotka HP 1100, příkon 30 VA
 - DAD detektor – zdroj světla deuteriová (UV) a wolframová (VIS) lampa, 1024 fotodiod, vlnový rozsah 190 – 950 nm, volitelná šířka štěrbin 1 – 16 nm
- Kolona ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2,1 x 150 mm; 3,5 μ m)
- Hmotnostní spektrometr Agilent 6320 Series, Ion Trap LC/MS
- Infuzní pumpa kdS 9100, kdScientific, USA

4.1.3 Software pro zpracování a prezentaci dat

- Microsoft[®] Word 2003
- Microsoft[®] Excel 2003
- HP Chem Station pro LC/MSD, Rev. B.01.03 (Agilent, USA)
- Agilent 6300 Series Ion Trap LC/MS Systém Software, Version 6.2 (2008)
- DataAnalysis for 6300 Series Ion Trap LC/MS Version 4.0, Bruker Daltonics GmbH

4.2 Chemikálie, spotřební materiál a standardy

4.2.1 Rozpouštědla

- Methanol Chromasolv[®], obsah 99,9% pro HPLC, Sigma-Aldrich, Německo
- Aceton Supra Solv[®], Merck KGaA, Německo

4.2.2 Chemikálie a jiné materiály

- Kyselina octová, Lach - Ner, s.r.o., Neratovice, Česká Republika
- Amoniak, vodný roztok 25-27%, PENTA, Chrudim, Česká Republika
- Bezvodý síran sodný p.a., Lach - Ner, s.r.o., Neratovice, Česká Republika
- Běžné dostupné chemikálie ve stopové analytické laboratoři

4.2.3 Použité SPE extrakční kolony

- SUPELCLEAN™, LC-SAX SPE Tube, Supelco Německo
- Oasis® HLB Cartrige, Waters, USA
- SUPELCLEAN™, ENVI™ - 18 SPE Tube, 6 ml, 500 mg sorbentu, Supelco Německo

4.2.4 Technické plyny

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

4.2.5 Použité standardy

- Standard Perfluorooktansulfonamid (FOSA), roztok v methanolu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada
- Standard Perfluorooktansulfonát (PFOS), roztok v methanolu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada
- Standard Perfluorooktanová kyselina (PFOA), roztok v methanolu, 50 µg/ml, Wellington Laboratories, Kanada

4.2.6 Studovaná matrice

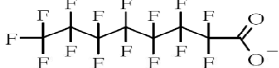
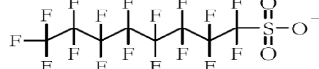

- Mořský písek – čistý
- Půdy z požáříšť a sedimenty

4.3 Pracovní postupy

4.3.1 Princip metod

Analyty byly z půdy extrahovány různými extrakčními metodami, jejichž postupy jsou popsány v následujícím textu. Identifikace a kvantifikace jednotlivých analytů byla provedena pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (HPLC/MS). Obsahy jednotlivých kontaminantů byly vyjádřeny na základě srovnání s individuálními standardy metodou externí kalibrační křivky.

Tabulka 20: Přehled sledovaných analytů

Název	Zkratka	CAS	Strukturní vzorec
Perfluorooktanová kyselina	PFOA	335-67-1	
Perfluorooktansulfonát sodný	PFOS	754-91-6	
Perfluorooktansulfonamid	FOSA	4021-47-0	

4.3.2 Izolace analytů

K získání analytů ze vzorku byly použity dvě extrakční metody - zrychlená extrakce rozpouštědlem a sonikace. V textu jsou dále uvedeny optimální postupy, které byly použity při extrakci reálných vzorků. Další testované metody jsou prezentovány v kapitole 6.3.

4.3.2.1 Zrychlená extrakce rozpouštědlem (PSE)

- vzorek mořského písku nebo půdy o hmotnosti cca 5 g byl zhomogenizován s bezvodým síranem sodným a převeden do kovové extrakční patrony (objem 33 ml)
- extrakce směsí acetonu s methanolem v poměru 1:3 probíhala za níže uvedených podmínek a extrakt byl jímán do skleněné vialky

Tabulka 21: Podmínky PSE extrakce

Teplota v extrakční patroně	150°C
Tlak v extrakční patroně	14 MPa
Počet cyklů	3
Doba statické fáze	17 min
Proplach patrony	10 s (směs aceton:methanol 1:3) a 1 min (sušení dusíkem)



Obrázek 12: PSE extraktor

4.3.2.2 Sonikace

- do 250 ml baněk bylo naváženo cca 5 g vzorku a přidáno 30 ml organického rozpouštědla

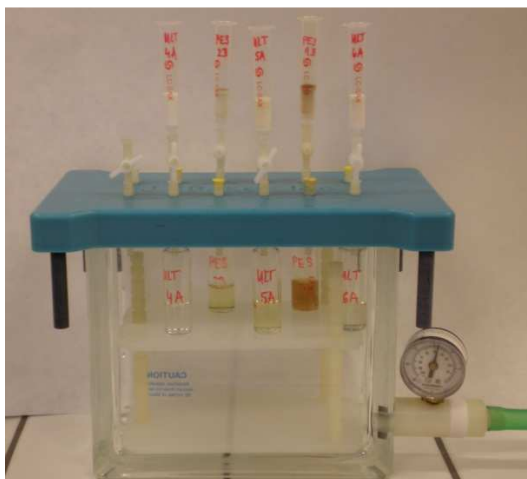
- jako rozpouštědlo byla použita směs aceton : methanol (1:3) a směs methanol : 1% kyselina octová (90:10)
- následně byla směs extrahována po dobu 30 minut v ultrazvukové lázni
- extrakt byl poté zfiltrován přes bezvodý síran sodný.

4.3.3 Přečištění extraktů

Extrakt z písku a půdy byly přečištěny pomocí SPE na kolonkách LC-SAX SPE Tube. Je zde prezentován optimální postup, kterým bylo provedeno přečištění získaného extraktu. Další testované metody jsou uvedeny v kapitole 6.4.

4.3.3.1 Extrakce na pevnou fázi (SPE)

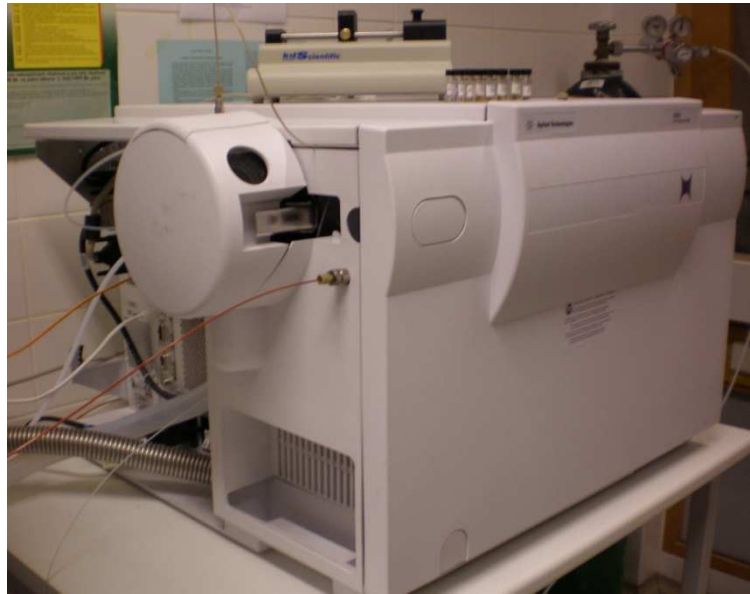
- kolona byla promyta 4 ml 1% roztoku NH_4OH v MeOH, průtok kolonou 2 kapky/s
- následovalo promytí kolony 4 ml H_2O , průtok kolonou 2 kapky/s
- na kolonu bylo nanášeno 30 ml vzorku, průtok kolonou 2 kapky/s
- kolona byla promyta 25 mM roztokem octanu sodného, průtok kolonou 2 kapky/s
- sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- eluce probíhala 4 ml 1% roztoku NH_4OH v MeOH, průtok kolonou 1 kapka/s
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při 60°C a odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH



Obrázek 13: SPE extrakce

4.3.4 Identifikace a kvantifikace analytů

Analýza standardů perfluorovaných sloučenin a vzorků byla provedena pomocí vysokoučinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC/MS) (obrázek 3). Analýza byla prováděna na koloně Zorbax Eclipse XDB-C18. Použitým typem ionizace byl elektrosprej a hmotnostní analyzátor byla iontová past.



Obrázek 14: HPLC-MS

Podmínky chromatografické separace

- mobilní fáze: 10 mM octan amonný, methanol
- nástřik: 3 μ l
- průtok MF: 150 μ l/min
- teplota kolony: 30 °C
- vlnová délka: 210 nm, 260 nm
- délka analýzy: 19 min
- izokraticky – 70% MeOH a 30% CH₃COONH₄

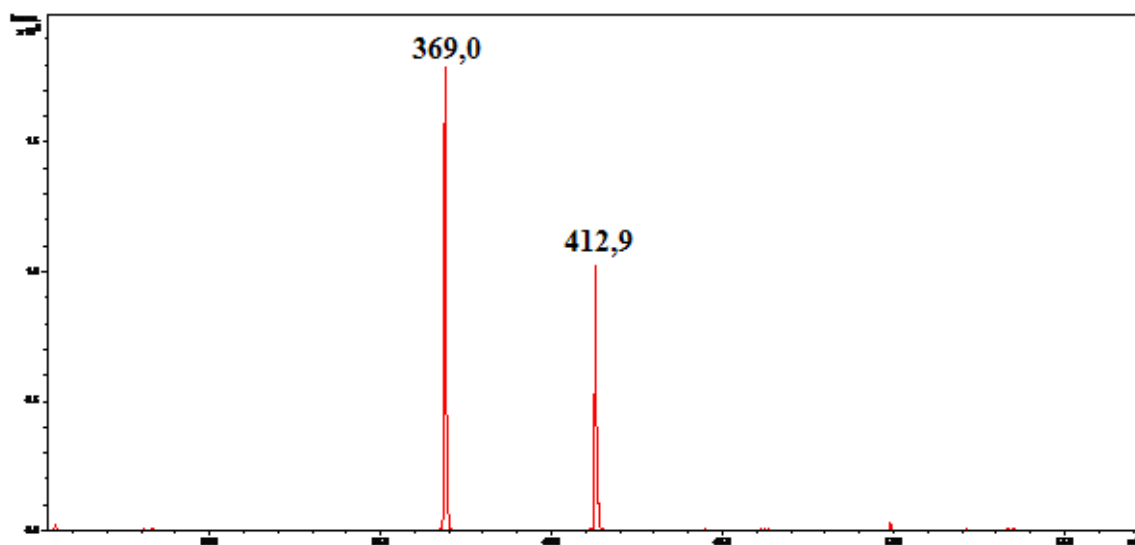
Parametry hmotnostního spektrometru

- sušící plyn: dusík
- tlak sušícího plynu: 20 psi
- průtok sušícího plynu: 10 l/min
- teplota sušícího plynu: 350 °C
- napětí na kapiláře: 76 nA
- negativní mód
- Scan 100 - 600 m/z
- Ultra Scan 50-2200 m/z
- cílová hmota: 450 m/z
- speed: 26000 m/z/sec

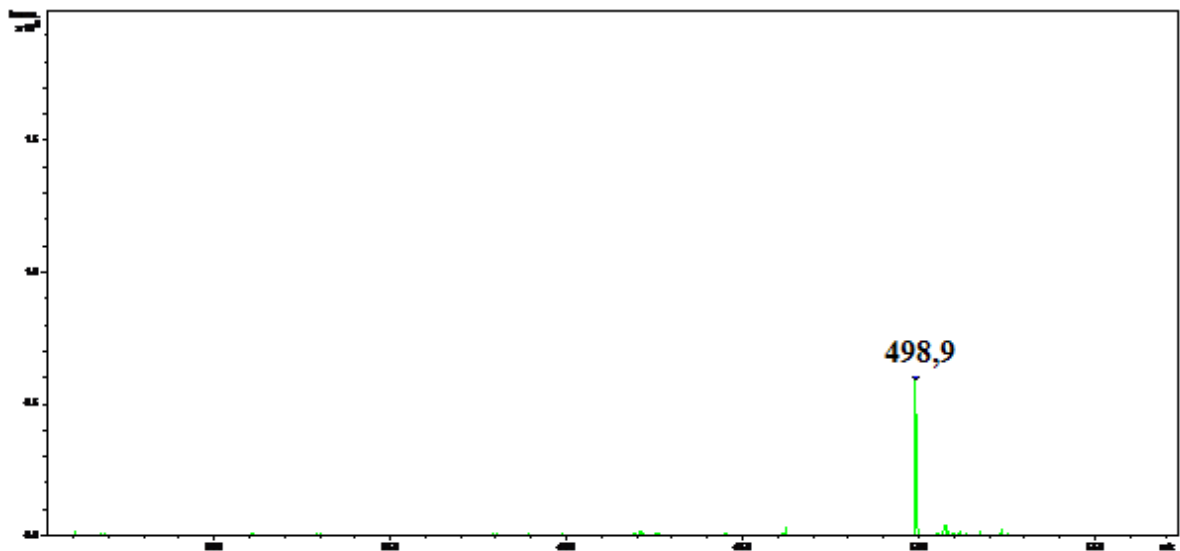
Kvantifikace analytů byla založena na technice externí kalibrace; byl připraven směsný standard všech tří analytů a kvantifikace byla provedena na základě sledování vybraných charakteristických iontů.

Ionizace elektrosprejem probíhala v záporném módu a byly sledovány ionty všech vybraných standardů v režimu MS. Sledované ionty byly následující: pro PFOA m/z 369, pro PFOS m/z 499 a pro FOSA m/z 498. Změřená hmotnostní spektra, která byla získána při optimalizaci přímým nástřikem standardu o koncentraci 10 μ g/ml, jsou uvedeny na obrázku 15, 16, 17.

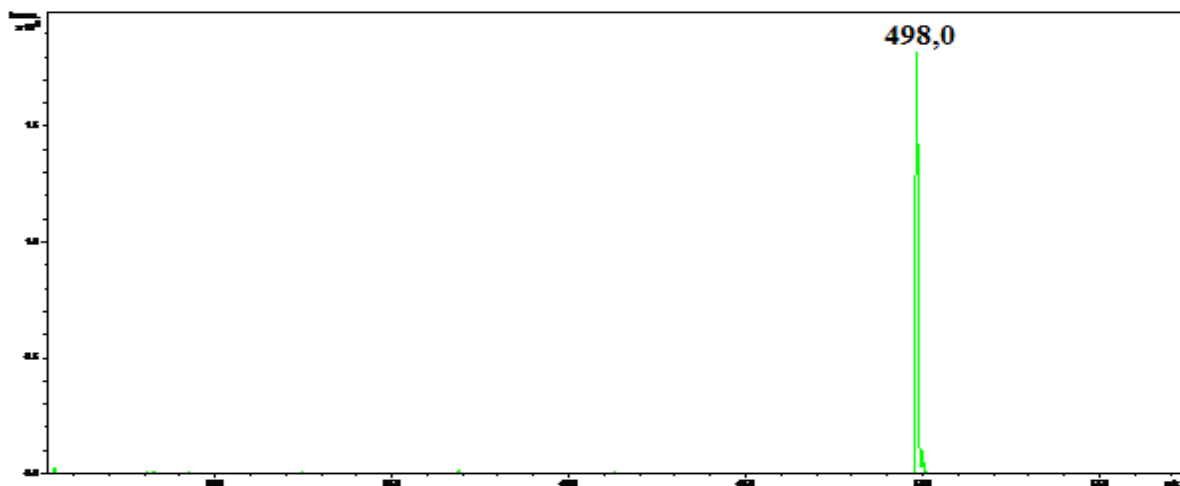
Měření MS/MS nebylo možné použít, protože sledované fragmenty standardů PFOS a PFOA (PFOS: 498,0>99; FOSA 498,9>78, obr. 5 a 6) nesplňovaly podmínku pro měření na iontové pasti (pravidlo 70:30). U PFOA (414>369, obr. 4) naopak zase docházelo k fragmentaci už v elektrospreji a tento fragment měl ve spektru větší intenzitu než molekulový ion. Proto byl použit pro kvantifikaci.



Obrázek 15: Hmotnostní spektrum - molekulový ion a fragment PFOA



Obrázek 16: Hmotnostní spektrum - molekulový ion PFOS



Obrázek 17: Hmotnostní spektrum - molekulový ion FOSA

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Následující kapitola shrnuje výsledky experimentů provedených na modelových a reálných vzorcích.

5.1 Optimalizace chromatografických podmínek

Byly připraveny směsné standardy sledovaných látek v methanolu.

Jako mobilní fáze (MF) byl použit 10 mM octan amonný a methanol. Pro detekci byla zvolena vlnová délka 210 nm. Průtok MF byl 150 μ l/min. Teplota termostatu kolon byla nastavena na 30 °C.

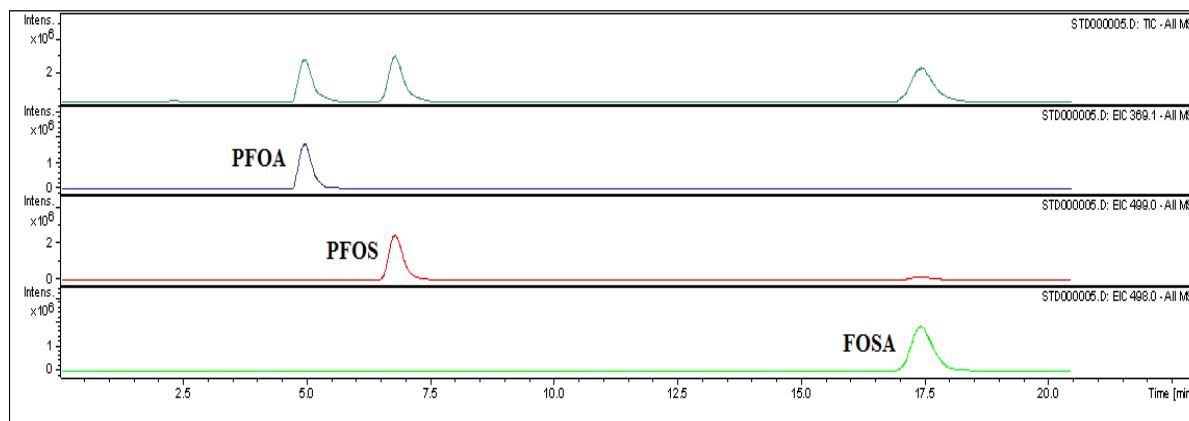
Byla provedena optimalizace složení mobilní fáze. Byla vyzkoušena izokratická a také gradientová eluce, při které byly použity různé poměry složek MF. Pro gradientovou eluci bylo dosaženo nejlepší separace při nastavení gradientu, který je uveden v tabulce 22. Celková doba jedné analýzy byla 17 minut včetně opětovného dosažení počátečního složení MF. Proto v porovnání s elucí izokratickou, která byla zvolena jako nejvhodnější, nebyla délka analýzy výrazně kratší, i když retenční čas posledního standardu se lišil o 7 minut. Navíc plochy píků při nástřiku stejné koncentrace byly vyšší u izokratické než u gradientové eluce. Ve všech dalších měřeních byla tedy použita izokratická eluce. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 23 a znázorněny na obrázcích 18 a 19.

Tabulka 22: Průběh gradientu mobilní fáze

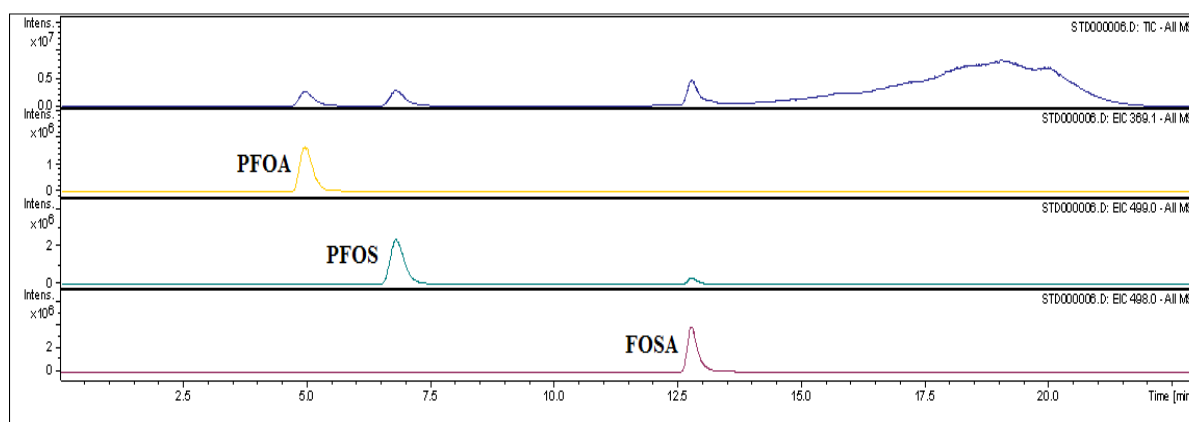
Čas (min)	MeOH (%)	NH ₄ OAc (%)
0	70	30
10,0	100	0
12,0	100	0
12,1	70	30
17,0	70	30

Tabulka 23: Srovnání účinnosti gradientové a izokratické eluce

Typ eluce	Plocha píku PFOA	Plocha píku PFOS	Plocha píku FOSA
Izokratická	30806311	48031755	38152900
Gradientová	30120821	44752363	36752305



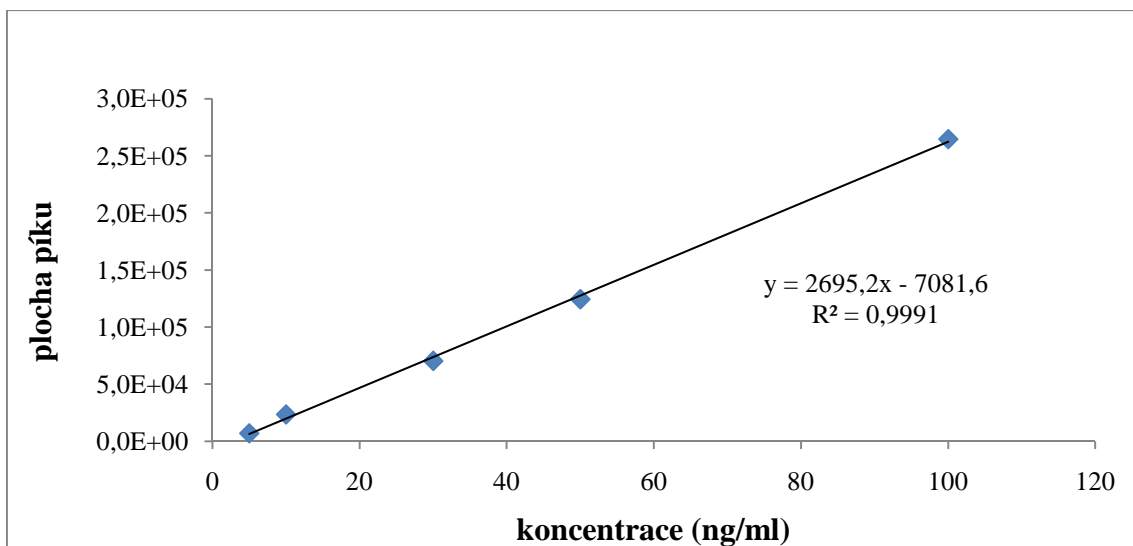
Obrázek 18: Chromatogramy při použití izokratické eluce



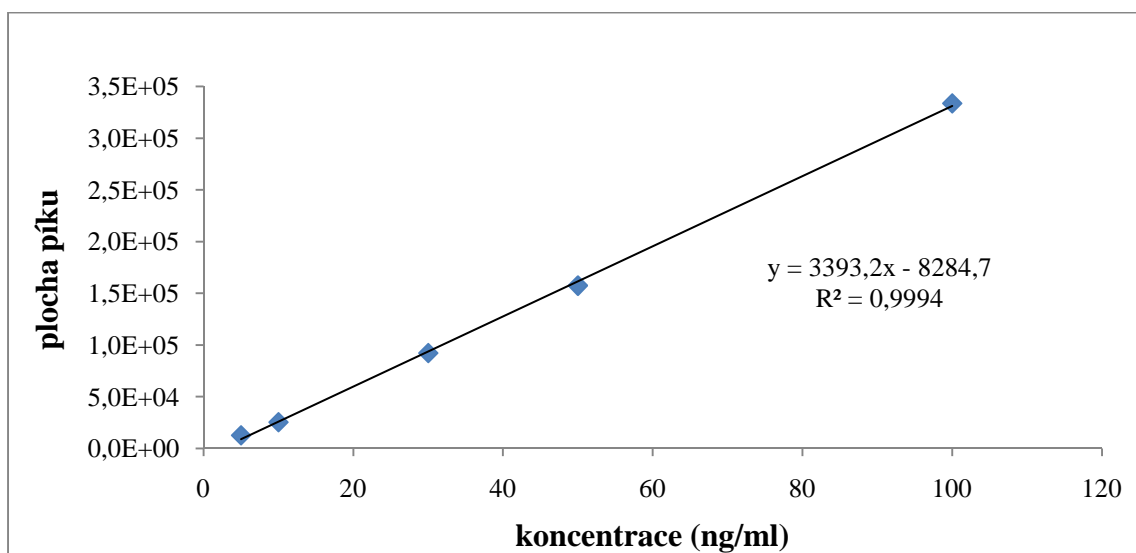
Obrázek 19: Chromatogramy při použití gradientové eluce

5.2 Kalibrační křivka, mez detekce, mez stanovitelnosti

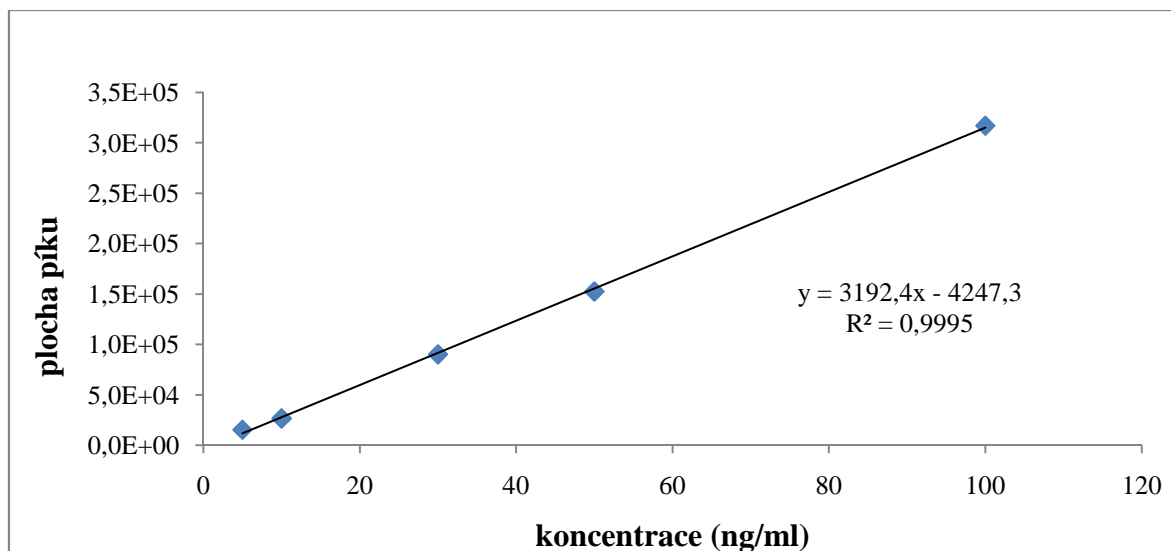
Pro kvantifikaci analytů byly připraveny směsné standardy o koncentracích 5, 10, 30, 50 a 100 ng/ml a byly proměřeny kalibrační křivky. Kalibrační křivky byly sestaveny jako závislosti plochy píku na koncentraci analytu. Kalibrační křivky sledovaných analytů jsou prezentovány v grafech 1, 2, 3 a rovnice kalibračních křivek udává tabulka 24.



Graf 1: Kalibrační křivka PFOA



Graf 2: Kalibrační křivka PFOS



Graf 3: Kalibrační křivka FOSA

Tabulka 24: Rovnice kalibračních křivek

Analyt	Rovnice kalibrační křivky
PFOA	$y = 2695,2x - 7081,6$
PFOS	$y = 3393,2x - 8284,7$
FOSA	$y = 3192,4x - 4247,3$

Mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ) byly určeny z šumu základní linie. Mez detekce odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu. Mez stanovitelnosti odpovídá koncentraci, při které je přesnost stanovení taková, že dovoluje kvantitativní vyhodnocení. Mez detekce byla vyjádřena jako trojnásobek šumu základní linie a mez stanovitelnosti jako desetinásobek šumu základní linie.

Příklad výpočtu LOD pro PFOA

$$LOD = \frac{3 \times h_n}{m} \times c$$

$$LOD = \frac{3 \times 230}{1179} \times c$$

$$LOD = \underline{\underline{2,9261 \text{ ng/ml}}}$$

h_nvýška šumu v reálném vzorku

cnejnižší koncentrace kalibrační řady 5 ng/ml

mvýška píku pro koncentraci 5 ng/ml

Přepočet na kg sušiny (obsah sušiny ve vzorku 99,99%)

$$2,9261 \text{ ng/ml} \times 0,9999 \times 200 = \underline{585,16 \text{ ng/kg sušiny}}$$

Příklad výpočtu LOQ pro PFOA:

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times h_n}{m} \times c$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times 230}{1179} \times 5$$

$$\text{LOQ} = \underline{9,7541 \text{ ng/ml}}$$

Přepočet na kg sušiny (obsah sušiny ve vzorku 99,99%)

$$9,7541 \times 0,9999 \times 200 = \underline{1891,21 \text{ ng/kg sušiny}}$$

LOD a LOQ pro jednotlivé látky stanovené pomocí HPLC-MS jsou shrnuty v tabulce 25.

Tabulka 25: Meze detekce a meze stanovitelnosti pro jednotlivé látky

Látka	Mez detekce (ng/ml)	Přepočet na sušinu (ng/kg sušiny)	Mez stanovitelnosti (ng/ml)	Přepočet na sušinu (ng/kg sušiny)
PFOA	2,9261	585,16	9,7540	1891,21
PFOS	2,0769	415,34	6,9231	1384,48
FOSA	2,0769	415,34	7,0161	1403,08

5.3 Porovnání účinností různých postupů extrakce

K extrakci pevných vzorků půd lze využít několik různých metod; v našem případě byla testována zrychlená extrakce rozpouštědlem (PSE) a extrakce pomocí ultrazvuku. Účinnosti byly zkoumány v laboratoři na modelových vzorcích kontaminovaného mořského písku.

Pro PSE byly porovnávány výsledky pro čtyři způsoby postupu (tabulky 26 – 29).

Tabulka 26: Parametry PSE I

Teplota extrakce	150°C
Tlak v extrakční patroně	14 MPa
Počet cyklů	3
Doba statické fáze	17 min
Proplach patrony	10 s (směs aceton:methanol 1:3) a 1 min (sušení dusíkem)

Tabulka 27: Parametry PSE II

Teplota v extrakce	150°C
Tlak	14 MPa
Počet cyklů	3
Doba statické fáze	10 min
Proplach patrony	10 s (směs aceton:methanol 1:3) a 1 min (sušení dusíkem)

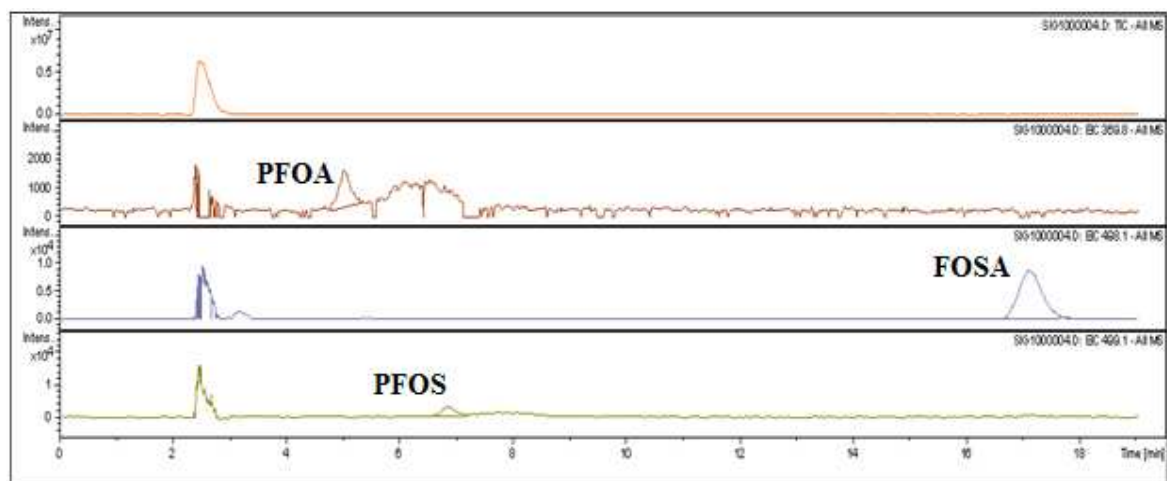
Tabulka 28: Parametry PSE III

Teplota extrakce	150°C
Tlak	14 MPa
Počet cyklů	2
Doba statické fáze	20 min
Proplach patrony	10 s (směs aceton:methanol 1:3) a 1 min (sušení dusíkem)

Tabulka 29: Parametry PSE IV

Teplota extrakce	150°C
Tlak	14 MPa
Počet cyklů	3
Doba statické fáze	15 min
Proplach patrony	10 s (směs aceton:methanol 1:3) a 1 min (sušení dusíkem)

Nejvyšších účinností bylo dosaženo v případě použití postupu I (obrázek 20). U postupu II byly získané výsledky pod mezí detekce a u postupů III a IV byly výtěžnosti nižší než u postupu I.



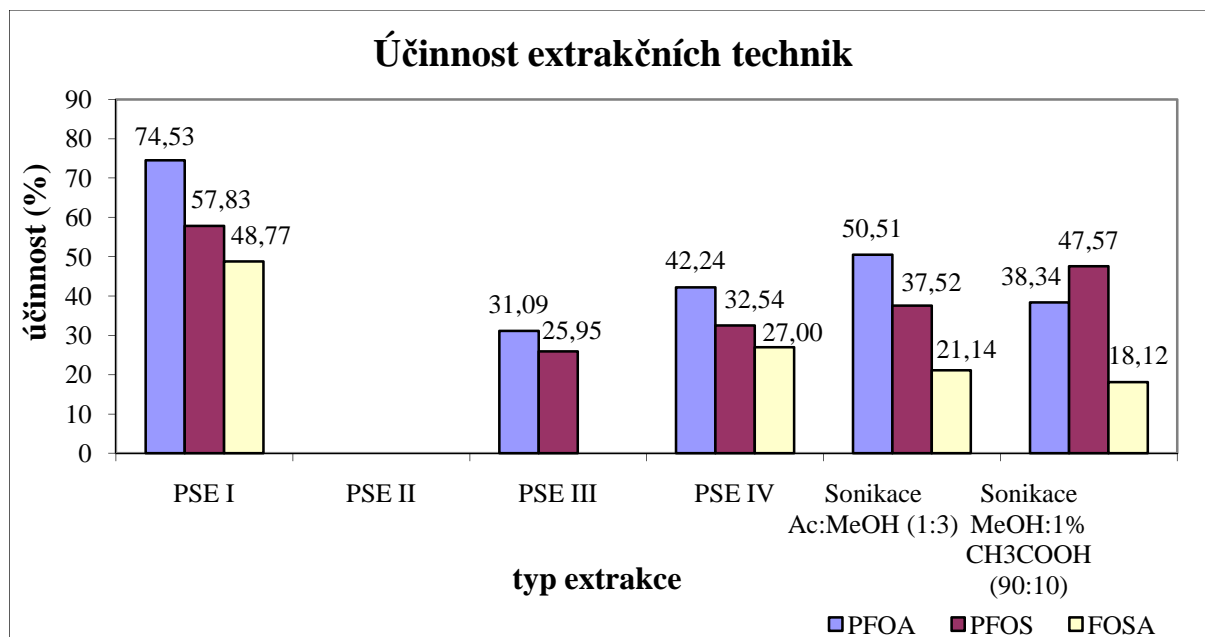
Obrázek 20: Chromatogram extraktu, který byl získán postupem PSE

Tabulka 30: Porovnání výtěžnosti extrakčních technik

Technika	Výtěžnost PFOA (%)	Výtěžnost PFOS (%)	Výtěžnost FOSA (%)
PSE I	74,53	57,83	48,77
PSE II	n.d.	n.d.	n.d.
PSE III	31,09	25,95	n.d.
PSE IV	42,24	32,54	27,00
Sonikace Ac : MeOH 1:3	51,51	37,52	21,14
Sonikace MeOH : 1% CH ₃ COOH 90:10	38,34	47,57	18,12

S PSE byla porovnána také extrakce ultrazvukem, která se podle literatury také často používá (pracovní postup byl popsán v kapitole 5.3.2.2) [1, 2, 7].

Výtěžnosti dvou postupů, které se lišily pouze použitou směsí extrakčních rozpouštědel, byly nižší než u postupu PSE I. Extrakce pomocí směsi methanolu a kyseliny octové se nám na rozdíl od publikovaných postupů neosvědčila [1, 7].



Graf 4: Porovnání výtěžnosti extrakčních metod

Výsledky výtěžností různých extrakčních metod jsou shrnuty v grafu 4. Je z nich patrné, že nejlepší používaný postup byla extrakce rozpouštědlem PSE I. Extrakce ultrazvukem za použití směsi aceton : methanol (1:3) je v porovnání s použitím směsi methanol : 1% kyselina octová (90:10) účinnější pro PFOA a FOSA. Naopak pro PFOS byla účinnější sonikace se směsí methanol : 1% kyselina octová.

5.4 Optimalizace SPE postupu

Pro přečištění a zakoncentrování získaného extraktu bylo při optimalizaci tohoto preanalytického postupu využito třech různých SPE kolonek, které se lišily použitou stacionární fází. Byly to kolonky Oasis HLB Cartridge, ENVI-18 a LC-SAX (obrázek 21). Kolonka Oasis HLB Cartridge má jako sorbent kopolymer divinylbenzen/N-vinylpyrrolidin, v kolonce ENVI-18 je sorbetem polymerně vázaná oktadecylová fáze a LC-SAX je iontově-výměnná kolonka obsahující polymerně vázaný quarternární amin. Kromě toho byly také použity různé postupy sorpce a eluce pro jednotlivé kolonky. Kvantifikace analytů byla provedena na základě kalibrační křivky, ze které byly spočítány výtěžnosti pro jednotlivé látky (tabulka 31). Grafu 5 je uvedena výtěžnost pro typy kolon a použitých postupů.



Obrázek 21: Použité SPE kolonky

5.4.1 Postup pro kolonky OASIS HLB a ENVI-18

- kolona byla promyta 2 ml MeOH, průtok kolonou 2 kapky/s
- následovalo promytí kolony 2 ml směsí MeOH : 1% CH₃COOH (90:10), průtok kolonou 2 kapky/s
- na kolonu bylo nanášeno 30 ml vzorku, průtok kolonou 2 kapky/s
- sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- eluce probíhala 3 ml MeOH, průtok kolonou 1 kapka/s
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při 40°C a odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

5.4.2 Postupy pro kolonky LC-SAX

POSTUP I

- kolona byla promyta 4 ml 1% roztoku NH₄OH v MeOH, průtok kolonou 2 kapky/s
- následovalo promytí kolony 4 ml H₂O, průtok kolonou 2 kapky/s
- na kolonu bylo nanášeno 30 ml vzorku, průtok kolonou 2 kapky/s
- kolona byla promyta 25 mM roztokem octanu sodného, průtok kolonou 2 kapky/s
- sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- eluce probíhala 4 ml 1% roztoku NH₄OH v MeOH, průtok kolonou 1 kapka/s
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při 60°C a odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

POSTUP II

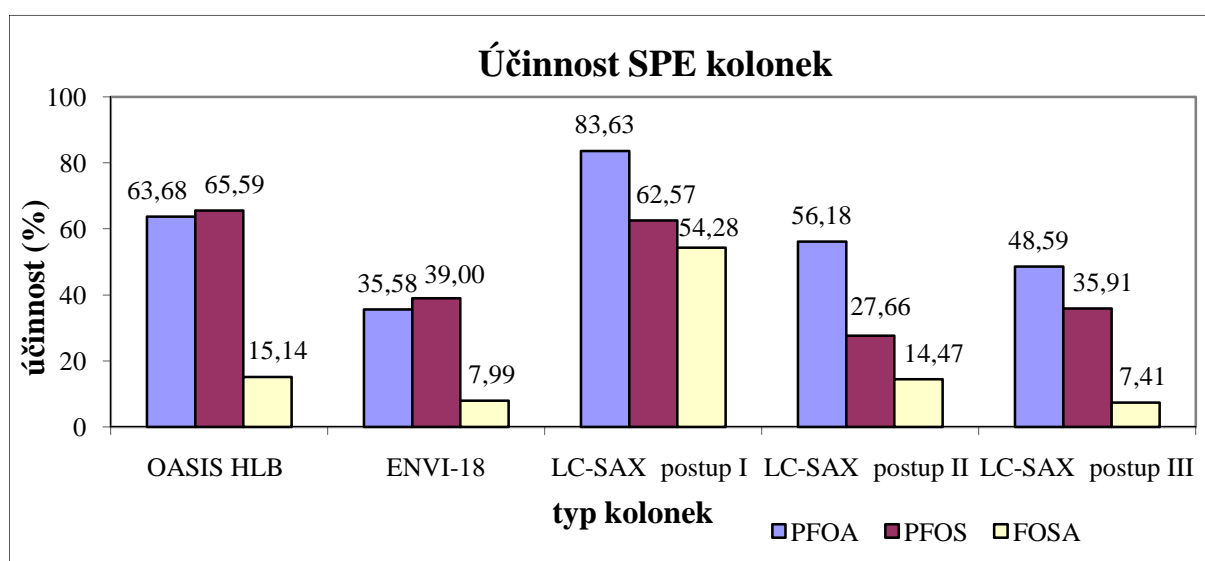
- kolona byla promyta 4 ml 1% roztoku NH₄OH v MeOH, průtok kolonou 2 kapky/s
- následovalo promytí kolony 4 ml MeOH a poté 4 ml H₂O, průtok kolonou 2 kapky/s
- na kolonu bylo nanášeno 30 ml vzorku, průtok kolonou 2 kapky/s
- kolona byla promyta 25 mM roztokem octanu sodného a 4 ml MeOH, průtok kolonou 2 kapky/s
- sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- eluce probíhala 4 ml 1% roztoku NH₄OH v MeOH, průtok kolonou 1 kapka/s
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při 60°C a odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

POSTUP III

- kolona byla promyta 10 ml 1% roztoku NH_4OH v MeOH, průtok kolonou 2 kapky/s
- následovalo promytí kolony 10 ml MeOH a 10 ml 1% CH_3COOH , průtok kolonou 2 kapky/s
- na kolonu bylo nanášeno 30 ml vzorku, průtok kolonou 2 kapky/s
- kolona byla promyta 10 ml 2% kyseliny mravenčí, průtok kolonou 2 kapky/s
- sušení proudem vzduchu po dobu 15 min
- eluce probíhala 2 ml MeOH a poté 3 ml 1% roztoku NH_4OH v MeOH, průtok kolonou 1 kapka/s
- eluát byl odpařen do sucha pod proudem dusíku při 60°C a odparek byl rozpuštěn v 1 ml MeOH

Tabulka 31: Výtěžnost použitých postupů

Kolona	Výtěžnost PFOA (%)	Výtěžnost PFOS (%)	Výtěžnost FOSA (%)
OASIS HLB	63,68	65,59	15,138
ENVI-18	35,58	39,00	7,99
LC-SAX postup I	83,63	62,57	54,28
LC-SAX postup II	56,18	27,66	14,47
LC-SAX postup III	48,59	35,91	7,41



Graf 5: Výtěžnosti SPE extrakce

Ani v jednom případě nebyly dosaženy výtěžnosti přesahující 90 %. Pro látky PFOA a PFOS byly podobné výsledky dosaženy na kolonkách HLB i SAX. Největší problém byl s FOSA, kdy jeho výtěžnost byla rozhodující pro výběr dále používaného postupu. Proto byl zvolen postup I s kolonkami LC-SAX.

5.5 Stanovení perfluorovaných sloučenin ve vzorcích půdy

Celkem bylo analyzováno 10 vzorků (9 vzorků půdy a 1 vzorek sedimentu) z 10 různých odběrových míst (tabulka 13). Jednotlivé vzorky půdy byly odebrány v místech požáru v různých lokalitách České Republiky. Byl odebrán přibližně 1 kg půdy v každé lokalitě a ta byla přepravena v mikrotenových sáčcích do laboratoře ke zpracování.

Vzorky byly skladovány v laboratoři a sušeny při laboratorní teplotě. Po vysušení byla půda přesívována přes nerezové síto o velikosti ok 2 mm. Pro další zpracování byla dále používaná frakce o velikosti zrn < 2 mm.

Bylo provedeno stanovení sušiny v půdě gravimetrickou metodou v souladu s normou ISO 11465:1993 [57]. Navážka 1 g vzorku byla sušena při teplotě 105 ± 2 °C po dobu 3 – 4 hodin do konstantní hmotnosti. Sušina je udávána v procentech. Výsledky měření jsou vztahovány na 1 kg sušiny.

Analýza reálných vzorků byla provedena podle výše uvedených postupů. K jejich izolaci z matrice byla použita tlaková extrakce rozpouštědlem (PSE) a sonikace. Dále byly extrakty přečištěny pomocí extrakce na pevné fázi (SPE).

Tabulka 32: Přehled odběrových míst

	Matrice	Obsah sušiny (%)	Lokalita	Předmět požáru
Vzorek 1	Půda z požářiště	99,97	Brandýs nad Labem	Bývalý průmyslový objekt strojíren a sléváren, dnes výkupna europalet
Vzorek 2		99,98	Brandýs nad Labem	Historická budova stodola u zámku
Vzorek 3		99,99	Brandýs nad Labem	Byt panelového domu
Vzorek 4		99,96	Dolní Hrachovice	Zemědělský objekt
Vzorek 5		99,99	Brno	Autovrakoviště
Vzorek 6		99,96	Malšice	Srub
Vzorek 7		99,99	Malšice	Sběrný dvůr
Vzorek 8		99,99	Radostovice	Zemědělský objekt
Vzorek 9		99,95	Velmovice	Les
Vzorek 10	Sediment	100	Brno	ČOV Modřice

Tabulka 33: Výsledky stanovení PFOA v reálných vzorcích

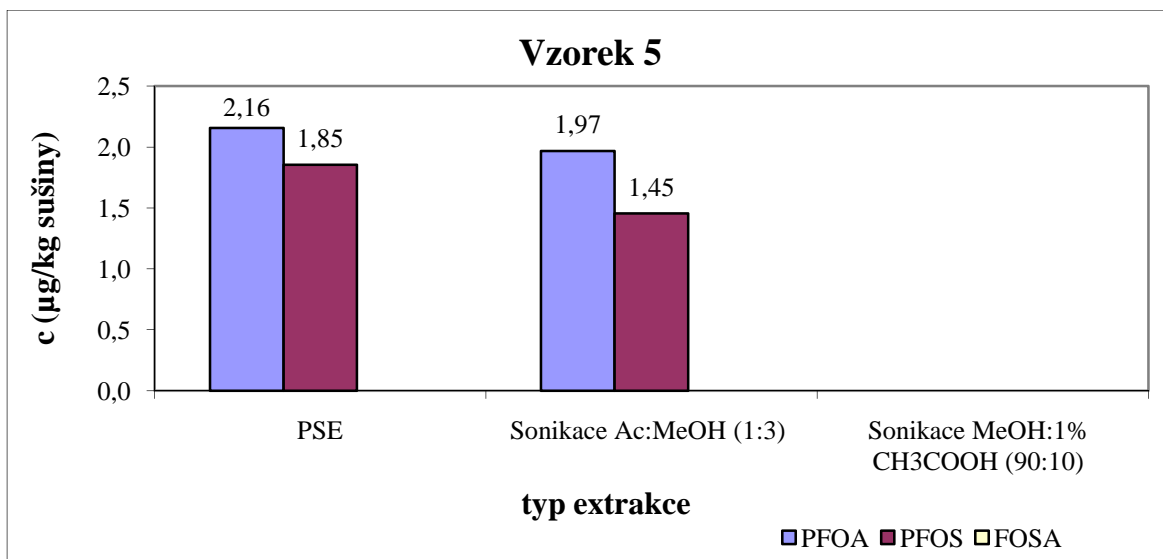
PFOA	Metoda extrakce	Množství (µg/kg sušiny)
Vzorek 1	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 2	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 3	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 4	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 5	PES	2,16
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	1,97
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 6	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 7	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 8	PES	1,99
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 9	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 10	PES	n.d.
	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.

Tabulka 34: Výskyt PFOS v reálných vzorcích

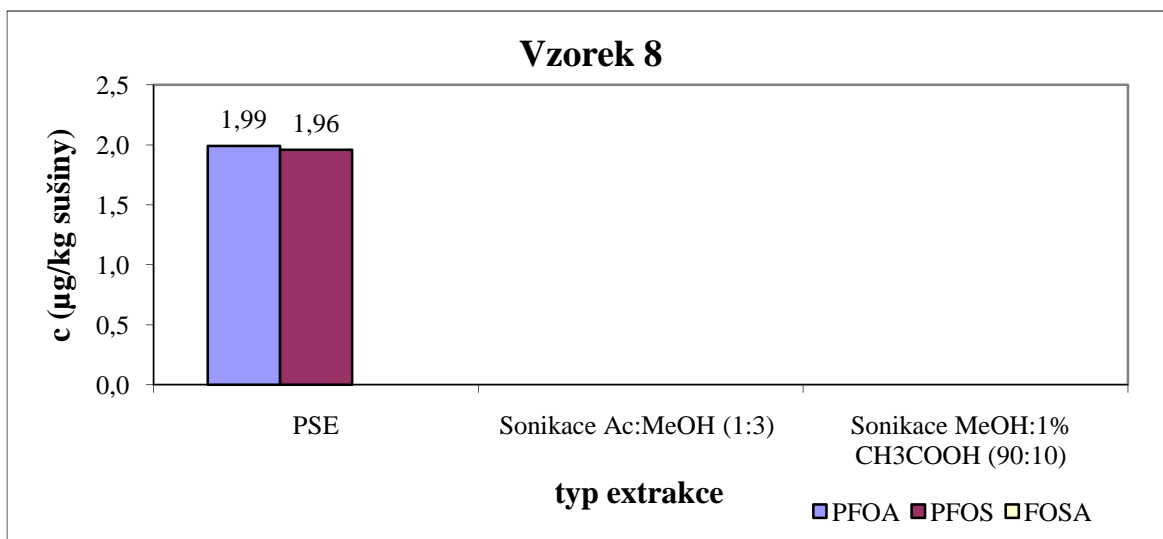
PFOS	Metoda extrakce	Množství (µg/kg sušiny)
Vzorek 1	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 2	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 3	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 4	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 5	PES	1,85
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	1,45
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 6	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 7	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 8	PES	1,96
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 9	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 10	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.

Tabulka 35: Výskyt FOSA v reálných vzorcích

FOSA	Metoda extrakce	Množství (µg/kg sušiny)
Vzorek 1	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 2	PES	n.d.
	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 3	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 4	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 5	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 6	PES	n.d.
	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 7	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 8	PES	n.d.
	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 9	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.
Vzorek 10	PES	n.d.
	Sonikace Ac : MeOH (1:3)	n.d.
	Sonikace 1% CH ₃ COOH : MeOH	n.d.



Graf 6: Graf výsledků obsahu PFAS ve vzorku půdy z autovrakoviště Brno (5)



Graf 7: Graf výsledků obsahu PFAS ve vzorku půdy z Radostovic (8)

Na podkladě získaných výsledků lze říci, že kontaminace půd odebraných z bezprostřední blízkosti požářišť je velmi nízká. Ve většině reálných vzorků byly koncentrace sledovaných perfluorovaných sloučenin nižší, než je mez detekce nebo mez stanovitelnosti použité metody.

Nejvíce kontaminována byla půda pocházející z autovrakoviště v Brně, kde před 2 lety došlo k velkému požáru. S využitím tlakové extrakce rozpouštědlem byla detekována PFOA v kvantifikovaném množství 2,16 µg/kg sušiny, zatímco po extrakci pomocí ultrazvuku (rozpouštědlo Ac : MeOH (1:3)) bylo toto množství nižší, a to 1,97 µg/kg sušiny. Dále byl v tomto vzorku identifikován také PFOS; za použití PSE extrakce byla zjištěná hodnota PFOS 1,85 µg/kg sušiny a s využitím sonikace (směs aceton:methanol (1:3)) jako extrakčního

postupu byla tato hodnota nižší, a to 1,45 µg/kg sušiny. Výsledky v tomto případě opět dokumentují to, že z hlediska vyšší výtěžnosti je lepším izolačním postupem PSE extrakce.

Perfluorované sloučeniny se používají v řadě průmyslových aplikací, ze kterých se mohou uvolňovat. Proto je možné, že se v prostředí vrakoviště vyskytují různé hořlaviny, a můžeme předpokládat, že při hašení požáru byly použity hasící pěny s obsahem perfluorovaných sloučenin.

Malé množství PFOA a PFOS bylo ještě prokázáno ve vzorcích půdy z Radostovic, kde hořelo v bývalém zemědělském objektu. V tomto případě byla při izolaci analytu z matrice úspěšná pouze tlaková extrakce rozpouštědlem, pomocí sonikace nebyly tyto analyty izolovány. Úroveň kontaminace PFOA byla zjištěna na hladině 1,99 µg/kg sušiny a prokázané množství PFOS bylo 1,96 µg/kg sušiny.

Koncentrace FOSA byly ve všech reálných vzorcích pod detekčním limitem, což mohlo být také způsobeno nejnižší výtěžností tohoto analytu.

6 ZÁVĚR

Předložená práce byla zaměřena na problematiku perfluorovaných sloučenin ve složkách životního prostředí. Značná část diplomové práce byla věnována teoretické oblasti, protože se jedná o „nové“ polutanty, které ještě nejsou komplexně popsány.

Do teoretické části diplomové práce byly na podkladě údajů z dostupné literatury popsány jejich fyzikálně-chemické, environmentální a toxikologické vlastnosti. Podstatná část byla věnována také výrobě a použití těchto látek a zejména analytickým metodám použitelným pro identifikaci a kvantifikaci perfluorovaných sloučenin.

Experimentální část diplomové práce byla zaměřena na vypracování optimalizovaného postupu pro stanovení těchto analytů v pevných maticích. Značná část založených experimentů byla věnována porovnání účinnosti různých extrakčních technik vhodných pro izolaci těchto analytů z pevné matrice a také postupům vhodným pro čištění získaných extraktů. Kompletní preanalytické postupy byly vypracovány pomocí modelových vzorků.

Z testovaných extrakčních technik byla pro samotné zpracování reálných vzorků půd pocházejících z požáříšť vybrána jako optimální metoda zrychlená extrakce rozpouštědlem (PSE).

Extrakce na pevné fázi (SPE) byla určena a experimentálně ověřena jako nejvhodnější metoda pro čištění extraktů s obsahem perfluorovaných sloučenin.

Identifikace a kvantifikace analytů byla provedena technikou HPLC-MS využívající ionizaci elektrosprejem v negativním módu; jako analyzátor byla použita iontová past.

Pouze ve dvou reálných vzorcích z deseti byly kvantifikovány jen velmi nízká množství PFOA a PFOS. Další hodnocený analyt, FOSA, byl ve všech analyzovaných reálných vzorcích pevných matic pod stanovenou mezí detekce použité metody.

Výsledky předložené diplomové práce přispějí k rozšíření poznatků o perfluorovaných sloučeninách, které v současnosti již právem patří k prioritním organickým polutantům znečišťujících abiotické a biotické složky životního prostředí.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] DE VOOGT; P., SÁEZ, M.: Analytical chemistry of perfluoroalkylated substances. *Trac-Trends in Analytical Chemistry.*, 2006, vol. 25, no. 4, pp. 326-342.
- [2] HEKSTER, F. M.; DE VOOGT P.: Perfluoroalkylated substances – Aquatic environmental assessment. RIKZ and University of Amsterdam. Report RIKZ/2002.043, 2002.
- [3] Swedish Chemicals Inspectorate and Swedish EPA: *Perfluorooctane sulfonate, Dossier prepared in support for a nomination of PFOS to the UN-ECE LRTAP Protocol and the Stockholm Convention*, 2004.
- [4] 3M: Sulfonated perfluorochemicals in the environment – Sources, dispersion, fate and effects. 3M, St.Paul, MN, 2000.
- [5] HÁJKOVÁ, K.; TOMANIOVÁ, M.; HAJŠLOVÁ, J.: Perfluorované perzistentní kontaminanty v potravních řetězcích, 2004, s. 46. [online]. [citováno 28.3. 2008]. Dostupné z: <http://www.phytopsanitary.org/old/projekty/2004/vvf-10-04.pdf>
- [6] 3M: Perfluorooctanoic acid: Physicochemical Properties and Environmental Fate Data. 3M, 2003.
- [7] VAN LEEUWEN, S. P. J.; de BOER, J.: Extraction and clean up strategies for the analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matrices. *Journal of Chromatography A*. 2007, vol. 1153, pp. 172-185.
- [8] KISSA E.: Fluorinated surfactants and repellents : Surfactant Science Series, A. T. Hubbard, Ed. 2001, vol. 97, Marcel Dekkar, Inc., New York.
- [9] 3M: Fluorochemical use, distribution and release overview, company sanitized version, St. Paulo, Minnesota, USA, 1999.
- [10] Dossier prepared in support for a nomination of PFOS to the UN-ECE LRTAP Protocol and the Stockholm Convention. *Swedish Chemicals Inspectorate (KemI) and the Swedish EPA*, 2004.
- [11] BROOKE; FOOTIT; NWAOGU: Environmental Risk Evaluation Report: Perfluorooctanesulphonate (PFOS), Environment Agency UK 2004.
- [12] 3M: The aerobic biodegradation of N-EtFOSE alcohol by the microbial activity present in municipal wastewater treatment sludge, Pace Analytical Services Inc. Minneapolis, Minnesota, USA, 2000.
- [13] MARTIN, J.W. et. al.: Identification of long-chain perfluorinated acid in biota from the Canadian Arctic. *Environ. Sci. Technol.*, 2004, vol. 38, pp. 373-380.
- [14] SASAKI, K. et. al.: Impact of airborne perfluorooctane sulfonate on the human body burden and the ecological system. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 2003, vol. 71, pp. 408-413.
- [15] MOODY, A.; CH., FIELD, A. J.: Determination of perfluorocarboxylates in groundwater impacted by fire-fighting activity. *Environmental Science & Technology*, 1999, vol. 33, no. 16, pp. 2800-2806.

- [16] Swedish Chemicals Inspectorate and Swedish EPA: *Perfluorooctane sulfonate (PFOS), Draft prepared for the ad hoc working group on PFOS under the POP Review Committee of the Stockholm Convention*, 2006.
- [17] HANSEN, K. J. et. al.: Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environ Sci Technol.*, 2002, vol. 36, pp. 16681-1685.
- [18] CALIEBE, C. et. al.: Occurrence of perfluorinated organic acids in the water of the North Sea. *Organohalogen Compounds* 2004, vol. 66, pp. 4074-4078.
- [19] GIESY, J. P.; KANNAN, K.: Selected fluorochemicals in the Decatur, Alabama Area. Prepared for 3M, St. Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, pp. AR226-1030A.
- [20] BERGER, U. et. al.: Perfluorinated alkylated substances (PFAS) in the European Nordic environment. *Organohalogen Compounds* 2004, vol. 66, pp. 4046-4052.
- [21] KANNAN, K.; GIESY, J. P.: Global distribution and bioaccumulation of perfluorinated hydrocarbons. *Organohalogen Compounds* 2002; vol. 59, pp. 267-270.
- [22] FROMME, H. et. al.: Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2007, vol. 80, pp. 313-319.
- [23] FROMME, H. et. al.: Perfluorinated compounds – Exposure assessment for the general population in western countries. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2009, vol. 212, pp. 239-70.
- [24] ELLIS, D.A. et. al.: Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environ Sci Technol.* 2004, vol. 38, no. 12, pp. 3316–3321.
- [25] GIESY, J. P.; KANNAN, K.: Accumulation of perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in fish tissues. Prepared for 3M, St. Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, pp. AR226-1030A.
- [26] GIESY, J. P.; KANNAN, K.: Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in fish-eating water Birds. Prepared for 3M, St. Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, pp. AR226-1030A.
- [27] 3M: Environmental and Health Assessment of Perfluorooctane Sulfonic Acid and its Salts. Prepared by 3M Company, with J. Moore (Hollyhouse Inc.), J. Rodericks and D. Turnbull (Environ. Corp.) and W. Warren-Hicks and Colleagues (The Cadmus Group, Inc.), 2003.
- [28] GIESY, J. P.; KANNAN, K.: Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in oyster, *Crassostrea virginica*, from the Gulf of Mexico and Chesapeake Bay. Prepared for 3M, St. Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, pp. AR226-1030A.

- [29] GIESY, J. P.; KANNAN, K.: Selected fluorochemicals in the Decatur, Alabama Area. Prepared for 3M, St. Paul, Minnesota, 2001. In US EPA Administrative Record, pp. AR226-1030A.
- [30] OLSEN, G.W. et. al.: Serum perfluorooctane sulfonate and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees. *J Occup Environ Med* 1999, vol. 41, pp. 799-806.
- [31] HÖLZER, J. et. al.: Biomonitoring of perfluorinated compounds in children and adults exposed to perfluorooctanoate-contaminated drinking water. *Environ Health Perspect* 2008; vol. 116, pp. 651-7.
- [32] TITTLEMEIER S. et. al.: Presence of anionic perfluorinated organic compounds in serum collected from northern Canadian populations. *Organohalogen Compounds* 2004; vol. 66, pp. 4009-4014.
- [33] OLSON, C. T.; ANDERSEN, M. E.: The acute toxicity of perfluorooctanoic and perfluorodecanoic acids in male rats and effects on tissue fatty acids, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1983, vol. 70, pp. 362-372.
- [34] HU, W. et. al.: Alterations in cell membrane properties caused by perfluorinated compounds. *Comp. Biochem. Phys C.* 2003, vol. 135, pp. 77-88.
- [35] INOUE, K. et. al.: Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: Assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environ Health Perspec* 2004, vol. 112, pp. 1204-1207.
- [36] ALEXANDER, B.J. et. al.: Mortality of employees of a perfluorooctanesulfonyl fluoride manufacturing facility. *Occup. Environ. Med.* 2003; vol. 60, pp. 722-729.
- [37] OLSEN, G. W. et. al.: Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctane sulfonate and other perfluorochemicals. *Environ. Sci. Technol.* 2003a, vol. 37, pp. 888-891.
- [38] BLAŽKOVÁ, E. *Problematika stanovení netradičních organochlorových sloučenin ve složkách ŽP*. Bakalářská práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno 2008, s. 35.
- [39] KAISER, M. A. et. al.: *Organohalogen compounds*. 2006, vol. 68, p. 675.
- [40] POWLEY, C.R. et. al.: *Anal. Chem.* 2005, vol. 77, p. 6353.
- [41] Zpracování vzorku půdy pro analýzu organických kontaminantů, materiál z přednášek [online]. [citováno 18. 4. 2008]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/elearning>
- [42] Tlaková extrakce rozpouštědlem PSE [online]. [citováno 12. 4. 2008]. Dostupné z: http://fvhe.vfu.cz/export/adresa/sekce_ustavy/uhtml/pdf/navody.pdf
- [43] POPL, M.; FÄHNRIK, J.: Analytická chemie životního prostředí. 4. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1999, 218 s. ISBN 80-7080-336-3.
- [44] SZOSTEK, B. et. al.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006, vol. 20 p. 2837.

- [45] YAMASHITA, N. et. al.: *Mar. Poll. Bull.* 2005, vol. 51, p. 658.
- [46] GONZALEZ-BARREIRO, E. et. al.: *Anal. Bioanal. Chem.* 2006, vol. 386, p. 2123.
- [47] HIGGINS, C. P. et. al.: *Environ. Sci. Technol.* 2005, vol. 39, p. 3946.
- [48] JEDLIČKOVÁ, L. *Charakterizace sladkých proteinů thaumatinů kapalinovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií.* Diplomová práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno 2008, s. 70.
- [49] SOMMER A KOL.: *Základy analytické chemie II*, VUTIUM, 1998, ISBN 80-214-1300-7.
- [50] HOLČAPEK, M.; JANDERA, P.: Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS) *Chem. Listy*, 1998, 92, s. 278 - 286.
- [51] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody.* Praha : Karolinum, 2004. 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [52] LANGLOIS, I.; OEHME, M.: Structural identification of isomers present in technica perfluorooctane sulfonate by tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006, vol. 20, pp. 844-850.
- [53] POWLEY, R. CH. et. al.: Matrix-effect free analytical method for determination of carboxylic acid in environmental matrixes. *Analytical Chemistry* 2005, vol. 77, no. 19, pp. 6353-58.
- [54] SCHRODER, H. F.: Determination of fluorinated surfactants and their metabolites in sewage sludge samples by liquid chromatography with mass spectrometry and tandem mass spectrometry after pressurised liquid extraction and separation on fluorine-modified reserved-phase sorbents. *Journal of Chromathography A* 2003, pp. 131-151.
- [55] WASHINGTON, W. J.: Analysis of perfluorinated carboxylic acids in soils: Detection and quantitation issues at low concentrations. *Journal of Chromathography A* 2007, vol. 1154, pp. 11-120.
- [56] ISO 11465:1993 zavedena v ČSN ISO 11465 Kvalita půdy - Stanovení hmotnostního podílu sušiny a hmotnostní vlhkosti půdy - Gravimetrická metoda (83 6635).

8 SEZNAM SYMBOLŮ

APCI	Chemická ionizace za atmosférického tlaku
ASE, PSE	Extrakce rozpouštědlem za vysokých teplot a tlaků
ECF	Elektrochemická fluorace
ESI	Ionizace elektrosprejem
FOSA	Perfluorooktansulfonamid
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IT	Iontová past
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemists (Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii)
Kow	Rozdělovací koeficient oktanol voda
LC ₅₀	Koncentrace, při které dojde k úhynu 50% sledovaných jedinců
LD ₅₀	Dávka, při které dojde k úhynu 50% sledovaných jedinců
LLE	Extrakce kapalina - kapalina
LOD	Mez detekce
LOQ	Mez stanovitelnosti
MS	Hmotnostní spektroskopie
MTBE	Terc-butyl(methyl)ether
NOEC	Nejvyšší koncentrace bez pozorovatelného nepříznivého účinku
PFAS	Perfluoroalkylované sloučeniny
PFBS	Perfluorobutansulfonát
PFCA	Perfluorované karboxylové kyseliny
PFHxS	Perfluorohexansulfonát
PFOA	Perfluorooktanová kyselina
PFOS	Perfluorooktansulfonát
PLE	Extrakce kapalnou fází za zvýšeného tlaku
POP	Persistentní organické polutanty
PSE	Tlaková extrakce rozpouštědlem
SPE	Extrakce pevnou fází
TSI	Ionizace termosprejem
TQ	Trojité kvadrupól