

**MASARYKOVA
UNIVERZITA**

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

**Pasivní vzorkování
aromatických aminů
v povrchových
a odpadních vodách**

Diplomová práce

PETRA KALOUSKOVÁ

Vedoucí práce: Mgr. Jakub Urík, Ph.D.

RECETOX
Program Životní prostředí a zdraví

Brno 2024

MUNI
SCI

Bibliografický záznam

Autor:	Petra Kalousková Přírodovědecká fakulta Masarykova univerzita RECETOX
Název práce:	Pasivní vzorkování aromatických aminů v povrchových a odpadních vodách
Studijní program:	Životní prostředí a zdraví
Vedoucí práce:	Mgr. Jakub Urík, Ph.D.
Rok:	2024
Počet stran:	120
Klíčová slova:	pasivní vzorkování, aromatické aminy, vodní prostředí, laboratorní kalibrace, vzorkovací rychlost, čistírna odpadních vod, hydrogelový pasivní vzorkovač

Bibliographic record

Author: Petra Kalousková
Faculty of Science
Masaryk University
RECETOX

Title of Thesis: Passive sampling of aromatic amines in surface waters and wastewaters

Degree Programme: Environment and health

Supervisor: Mgr. Jakub Urík, Ph.D.

Year: 2024

Number of Pages: 120

Keywords: passive sampling, aromatic amines, aquatic environment, laboratory calibration, sampling rate, wastewater treatment plant, hydrogel passive sampler

Abstrakt

Vlivem člověka je do našeho životního prostředí každý den vypouštěno velké množství látek, které mají nejrůznější efekty nejen na samotné prostředí, ale také na rostliny, živočichy a samozřejmě i na nás. Jedním ze způsobů, jak zamezit emisím látek do povrchových vod, je jejich odstranění v čistírnách odpadních vod. Bohužel ani tyto komplexní procesy mnohdy nejsou schopné spolehlivě odstranit různé chemikálie obsažené v odpadní vodě. Mezi takové látky řadíme i aromatické aminy, které zvyšují mutagenitu a karcinogenitu povrchových vod. Tyto látky mohou mít negativní dopad již při stopových koncentracích, které je velmi obtížné měřit. Náplní této práce bylo objasnit jejich výskyt a osud v odpadních a povrchových vodách. Pro tento účel byly vybrány tři pasivní vzorkovače umožňující zachycení i velmi nízkých koncentrací. Z vybraných 45 bylo detekováno 30 aromatických aminů, přičemž byl pozorován i vznik některých z nich v procesu čištění. Koncentrace aromatických aminů ve vodě se pohybovaly v rozmezí $1 - 99\,491\text{ ng L}^{-1}$ se střední hodnotou 33 ng L^{-1} na přítoku a $1 - 122\text{ ng L}^{-1}$ se střední hodnotou 9 ng L^{-1} na odtoku. Nejvyšší množství bylo v případě přítoku naměřeno pro 2,4'-diaminotoluen, cyklohexylamin a anilin. Na odtoku pak anilin a o-anisidin, klasifikovány dle IARC jako pravděpodobné karcinogeny, a benzidin, prokázaný karcinogen. Na základě výsledků byl jako nejspolehlivější vybrán hydrogelový pasivní vzorkovač, který byl dále kalibrován za laboratorních podmínek v akváriu pro získání vzorkovacích rychlostí. Tyto však byly nadhodnocené, protože bylo odhaleno, že většina aromatických aminů se během skladování vzorků vody ztrácí, ať už rozpadem či sorpcí na stěny polykarbonátových vzorkovnic, a to i přesto, že jsou zmrazené. Tento jev se potvrdil experimentálně, kdy hodnota mediánu poločasu života dle kinetiky prvního řádu byla za těchto podmínek 3,2 dne. Tato zjištění poukazují na nezbytnost věnovat další úsilí monitorování aromatických aminů v odpadních a povrchových vodách, a zároveň jsou silným podkladem pro další výzkum v oblasti vzorkování a laboratorního zpracování těchto látek.

Abstract

Due to human influence, many substances are released into our environment every day, which have various effects not only on the environment itself, but also on plants, animals and, of course, on us. One way to prevent the emission of substances into surface water is to remove them in wastewater treatment plants. Unfortunately, even these complex processes are often unable to reliably remove the various chemicals contained in wastewater. These include aromatic amines, which increase the mutagenicity and carcinogenicity of surface water. These substances can have a negative impact even at trace concentration levels, which are very difficult to measure. The aim of this work was to clarify their occurrence and fate in wastewater and surface water. For this purpose, three passive samplers were selected, allowing the capture of even very low concentrations. Of the 45 selected, 30 aromatic amines were detected and the formation of some of them in the treatment process was also observed. The concentrations of aromatic amines in the water ranged from 1 to 99 491 ng L⁻¹ with a mean value of 33 ng L⁻¹ at the influent and 1-122 ng L⁻¹ with a mean value of 9 ng L⁻¹ at the effluent. At the influent the highest amounts were measured for 2,4'-diaminotoluene, cyclohexylamine and aniline, and at the effluent, aniline and *o*-anisidine, classified by IARC as probable carcinogens, and benzidine, a proven carcinogen. Based on the results, a hydrogel passive sampler was selected as the most reliable and was further calibrated under laboratory conditions in the aquarium to obtain sampling rates. However, these were overestimated because it was revealed that most of the aromatic amines were lost during storage of the water samples, either by degradation or by sorption to the walls of the polycarbonate flasks, even though they were frozen. This phenomenon was confirmed experimentally and the median value of the half-life according to first order kinetics was 3.2 days under these conditions. These findings point to the need for further efforts to monitor aromatic amines in wastewater and surface water, and provide a strong basis for further research in sampling and laboratory processing of these compounds.

ZADÁNÍ
DIPLOMOVÉ PRÁCE

Akademický rok: 2023/2024

Ústav:	RECETOX
Studentka:	Bc. Petra Kalousková
Program:	Životní prostředí a zdraví
Specializace:	Životní prostředí a zdraví

Ředitel ústavu PřF MU Vám ve smyslu Studijního a zkušebního řádu MU určuje diplomovou práci s názvem:

Název práce:	Pasivní vzorkování aromatických aminů v povrchových a odpadních vodách
Název práce anglicky:	Passive sampling of aromatic amines in surface waters and wastewaters
Jazyk závěrečné práce:	čeština

Oficiální zadání:

Aromatické aminy jsou látky, které přispívají k celkové mutagenitě povrchových vod. Potenciálními zdroji těchto látek jako polutantů je kouření a tepelná úprava jídel bohatých na proteiny. Sledování transportu těchto látek z vnitřního prostředí přes kanalizaci a čistírny odpadních vod až do povrchových vod je proto důležitou součástí výzkumu znečištění životního prostředí. Pro jejich monitoring ve vodě lze využít pasivního vzorkování, metodu založenou na principu difuze a následné sorpce analytu z vodního prostředí do vhodného sorbentu. Pro zvýšení přesnosti stanovení látek pomocí pasivního vzorkování lze použít kontrolní difuzní vrstvu, například ve formě hydrogelu nebo ochranné membrány.

Tato práce se zabývá výběrem, kalibrací a testováním pasivních vzorkovačů vhodných pro stanovení aromatických aminů v odpadních a povrchových vodách. Cílem práce tedy bude:

1. Rešerše vlastností sledovaných látek a nejmodernějších technik pasivního vzorkování s cílem výběru vhodného sorbentu a designu pasivního vzorkovače pro tyto látky.
2. Laboratorní kalibrace vybraných pasivních vzorkovačů, tedy stanovení vzorkovacích rychlostí pro všechny sledované látky za daných podmínek.
3. Použití kalibrovaných vzorkovačů na přítoku i odtoku čistírny odpadních vod a v povrchových vodách s cílem získat časově vážené průměry koncentrací sledovaných aromatických aminů v daných obdobích. Součástí terénní kampaně je i odběr bodových vzorků pro porovnání s výsledky pasivního vzorkování.
4. Diskuse o výskytu aromatických aminů v povrchových vodách, jejich zdrojích a potenciálním nebezpečí, které představují pro ekosystém i člověka.

Vedoucí práce:	Mgr. Jakub Urík, Ph.D.
Konzultant:	doc. Ing. Branislav Vrana, PhD. Mgr. Simona Krupčíková
Datum zadání práce:	8. 10. 2022
V Brně dne:	6. 5. 2024

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením vedoucího práce s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Poděkování

Na tomto místě bych v první řadě chtěla poděkovat svému vedoucímu práce Mgr. Jakubovi Uríkovi, Ph.D., za jeho motivující přístup k vedení této práce, cenné rady a odborný vhled do problematiky, stejně tak jako trpělivost a podporu, kterou mi poskytoval při vypracovávání této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat svým konzultantům doc. Ing. Branislavovi Vranovi, Ph.D., za možnost být součástí vzorkovací kampaně a získat důležité zkušenosti a znalosti, za jeho podporující přístup a odborné rady. Mgr. Simoně Krupčíkové za přátelské vedení a předání svých odborných zkušeností v laboratoři a při zpracování výsledků. Poděkování patří i Mgr. Markovi Stiborkovi, Ph.D., za pohotové měření a vyhodnocení vzorků v této práci a veškerou pomoc a rady v oblasti analýzy. Děkuji vám všem, že jste si na mě vždy udělali čas i když jste ho sami neměli.

Ráda bych poděkovala i celému výzkumnému ústavu RECETOX, kde jsem měla možnost získat potřebné informace a zdroje pro svůj výzkum. Děkuji i všem ostatním pracovníkům, kteří se jakkoliv podíleli na výsledku této práce. Samozřejmě nesmím zapomenout ani na své spolužačky za jejich slova podpory, sdílení zkušeností a přátelství, díky kterému bylo možné překonat i ty nejtěžší chvíle. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svému příteli, kamarádům a mé rodině za to, že mě povzbuzovali a umožnili mi studovat s jejich neskonalou podporou.

Obsah

Seznam obrázků	15
Seznam tabulek	17
Seznam pojmů a zkratk	18
Seznam příloh	21
1 Úvod	23
2 Cíle	25
3 Problematika znečištění vod	26
3.1 Obecná charakteristika	26
4 Aromatické aminy	29
4.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti	29
4.2 Azobarviva	31
4.3 Zdroje a osud v životním prostředí	33
4.4 Vliv na zdraví	36
4.5 Legislativa a omezení	39
5 Pasivní vzorkování	41
5.1 Obecná charakteristika	41
5.2 Druhy pasivních vzorkovačů	45
5.3 Charakteristika vzorkovačů použitých v experimentu	52
5.4 Kalibrace vzorkovačů	57
6 Čistírny odpadních vod	59
7 Praktická část	62
7.1 Použitý materiál, vybavení, chemikálie	62
7.2 Příprava vzorkovačů	63
7.3 Terénní experiment	66
7.4 Kalibrační experiment	74
7.5 Experiment na úbytek AAs	77

7.6	QA/QC.....	78
7.7	Instrumentální analýza.....	78
8	Výsledky a diskuze	80
8.1	Terénní experiment	80
8.2	Výsledky z kalibračního experimentu.....	97
9	Limitace	104
10	Závěr	105
	Použité zdroje	107

Seznam obrázků

Obrázek 1: Porovnání bodového odběru vzorku a pasivního vzorkování (Surdyk et al., 2017)	27
Obrázek 2: Příklady struktur aromatických aminů - (1) monocyklický anilin, (2) polycyklický benzidin, (3) heterocyklický norharman.....	29
Obrázek 3: Znázornění přeměny azobarviva na bázi benzidinu na benzidin (Korinth et al., 2013)	32
Obrázek 4: Přehled zdrojů aromatických aminů a jejich propojenosti	36
Obrázek 5: Zobrazení jednotlivých bariér vytvářející rezistenci vůči příjmu látek do vzorkovače (Booij et al., 2007).....	42
Obrázek 6: Grafické znázornění průběhu pasivního vzorkování (Vrana et al., 2005).43	
Obrázek 7: Stavba SPMD vzorkovače (Seethapathy et al., 2008).....	47
Obrázek 8: Stavba POCIS vzorkovače (Seethapathy et al., 2008)	48
Obrázek 9: Stavba Chemcatcheru (Seethapathy et al., 2008; Zaixing, 2006)	49
Obrázek 10: Keramický dozimetr se sorpčními kuličkami (Booij et al., 2007)	50
Obrázek 11: Stavba vzorkovače MESCO (Booij et al., 2007; Paschke et al., 2006)	50
Obrázek 12: Stavba DGT vzorkovače (Averós et al., 2020)	51
Obrázek 13: Struktura speedisku – jeho jednotlivé části obsažené uvnitř vzorkovače	53
Obrázek 14: Sestavení Affinisep vzorkovače bez hydrogelu	55
Obrázek 15: Sestavení hydrogelového vzorkovače.....	56
Obrázek 16: Kondicionace speedisků	64
Obrázek 17: Znázornění skládání AD vzorkovače bez hydrogelu	64
Obrázek 18: Sestavené AD vzorkovače a spojené dohromady.....	65
Obrázek 19: (1) příprava hydrogelu s pomocí magnetické míchačky (2) forma na hydrogel s gumovými mezerníky (3) hydrogel zalitý ve formě se sítkou (4) hotový hydrogel	66
Obrázek 20: Ukázka připravené mřížky se vzorkovači, červené elektrikářské pásky naznačují, že se jedná o set vzorkovačů, který bude vystaven jeden týden	67
Obrázek 21: Nalevo vidíme mřížku se vzorkovači exponovanou v přítoku, kde se nachází velké množství znečištění, co lidé splachují a které ještě nebylo odstraněno, napravo naopak vidíme vzorkovače umístěné na odtoku, kde převažují spíše vodní organismy.....	68
Obrázek 22: Zpracování speedisků – (1) – exponované speedisky, (2) speedisky ve vzorkovnicích před lyofilizací, (3) speedisk po lyofilizaci, (4) extrakce rozpouštědly, (5) zakoncentrování na Buchi Syncore, (6) finální vzorek.....	70
Obrázek 23: Vyobrazení sorpčních disků po vyjmutí ze vzorkovače. V levé polovině vidíme Affinisep disky ze vzorkovače AD, přičemž v horní polovině jsou Affinisep disky na přítoku a dole na odtoku. V pravé polovině pak vidíme sorpční disky z hydrogelového vzorkovače, v horní polovině z přítoku a v dolní polovině z odtoku.....	71

Obrázek 24: Znázornění analýzy disků - (1) rozmntování vzorkovačů, (2) lyoflizace, (3) disk po lyofilizaci, (4) extrakce do acetonitrilu během třepání, (5) zakoncentrování na Buchi Syncore, (6) finální vzorek.....	72
Obrázek 25: Vzorek vody, který protéká přes Affinisep disk pro extrakci analytů	73
Obrázek 26: Čistý sorbent připravený pro profiltrování vzorku vody (nalevo), znečištěný filtr poté, co byl profiltrován vzorek vody (vpravo)	73
Obrázek 27: Akvárium se vzorkovači	74
Obrázek 28: Schéma přístrojů a vzorkovačů umístěných v akváriu během experimentu	76
Obrázek 29: Schéma umístění vzorkovačů v akváriu a zapsání jejich odběrů v příslušné dny	77
Obrázek 30: Schéma hodnocení dat pro výslednou informaci o detekci AAs vzorkovači a vzorky vod	80
Obrázek 31: Částice na dně Syncore zkumavky, které se uvolnily z Affinisep disku....	81
Obrázek 32: Schéma hodnocení dat pro výpočet vzorkovacích rychlostí	85
Obrázek 33: Vyhodnocení integrativnosti vzorkování ANI kdy příjem této látky do vzorkovače HPS nebyl integrativní za žádnou časovou dobu delší než týden	86
Obrázek 34: Vyhodnocení integrativnosti vzorkování OANI, kdy byl příjem látky vzorkovačem HPS integrativní za celé čtyři týdny	87
Obrázek 35: Graf OANI znázorňující téměř konstantní koncentrace na odtoku po dobu 28 dní	88
Obrázek 36: Klesající trend koncentrací HRMA ve vzorcích vody po dobu 28 dní	89
Obrázek 37: Graf lineární regrese OANI pro čtyřtýdenní expozici (V1_V5)	90
Obrázek 38: Graf lineární regrese OANI pro dřívější třítýdenní expozici (V1_V4)	90
Obrázek 39: Graf lineární regrese OANI pro pozdější třítýdenní expozici (V2_V5)	91
Obrázek 40: Graf lineární regrese OANI pro dřívější dvoutýdenní expozici (V1_V3) ..	91
Obrázek 41: Graf lineární regrese OANI pro pozdější dvoutýdenní expozici (V3_V5) ..	92
Obrázek 42: Účinnost odstranění vypočítána z dat pro HPS	95
Obrázek 43: Účinnost odstranění vypočítána z dat ze vzorků vody	96
Obrázek 44: Znázornění nárůstu koncentrace 2APY ve vzorkovači a koncentrace ve vodě	98
Obrázek 45: Graf nárůstu koncentrace 4AMB ve vzorkovači a klesající koncentrace ve vodě	98
Obrázek 46: Graf úbytku 2NAPA, pro který byl vypočítán poločas života 2,6 dní	101
Obrázek 47: Graf korelace poločasů života stanovených v této práci a poločasů života v povrchových vodách z literatury	103
Obrázek 48: Poškození vrstev vzorkovačů, vlevo vidíme protržení předfiltru, napravo naopak vrstvu biofilmu	104

Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled základních fyzikálních a chemických vlastností aromatických aminů ² (Chemspider, 2023; Pubchem, 2023) ¹	30
Tabulka 2: Seznam aromatických aminů podléhajících nařízení Evropské komise a Rady č. 1907/2006 (REACH) (Evropský Parlament a Rada, 2006).....	40
Tabulka 3: Seznam vzorkovačů a jejich charakteristika.....	52
Tabulka 4: Přehled druhů sorbentů a cílové analyty	53
Tabulka 5: Schéma expozice vzorkovačů – jednotýdenní (červené), dvoutýdenní (žluté), třítydenní (zelené), čtyřtydenní (černé).....	67
Tabulka 6: Přehled aromatických aminů detekovaných jednotlivými vzorkovači a z kompozitních vzorků vody a jejich střední koncentrace za období čtyř týdnů	82
Tabulka 7: Přehled výsledků vzorkovacích rychlostí, NI značí neintegrativní vzorkování	93
Tabulka 8: Přehled vzorkovacích rychlostí – teoretické dle výpočtu, experimentální a experimentální s jednotkovou koncentrací ve vodě.....	99
Tabulka 9: Přehled stanovených poločasů rozpadů aromatických aminů ve zmražených vzorcích vody	102

Seznam pojmů a zkratk

A	– plocha
AAs	– aromatické aminy (aromatic amines)
AD	– vzorkovač s Affinisep diskem
c_{EF}	– koncentrace na odtoku čistírny odpadních vod
c_{IN}	– koncentrace na přítoku čistírny odpadních vod
c'	– rychlost změny koncentrace
c_s	– koncentrace ve vzorkovači
c_w	– koncentrace ve vodě
c_{w0}	– koncentrace ve vodě v čase 0
ČOV	– čistírna odpadních vod
D	– molekulární difúzní koeficient analytu
D_b	– difúzní koeficient látky v biofilmu
DGT	– pasivní vzorkovač na bázi difúzních gradientů v tenkých vrstvách (diffusive gradients in thin films)
D_m	– difúzní koeficient látky v membráně
dMRM	– dynamické monitorování vícenásobných reakcí (dynamic multiple reaction monitoring)
DVB	– divinylbenzen
D_w	– difúzní koeficient mezní vrstvy vody
EU	– Evropská unie
FWHM	– plná šířka v polovině maxima (full width at half maximum)
HAAs	– heterocyklické aromatické uhlovodíky
HLB	– typ sorbentu (hydrophilic-lipophilic balanced)
HPS	– vzorkovač s hydrogelem (hydrogel passive sampler)
IARC	– Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer)
K	– distribuční koeficient

k	– rychlostní konstanta reakce prvního řádu
k_1	– koeficient přenosu hmoty v přímém toku
k_2	– koeficient přenosu hmoty v opačném toku
k_b	– koeficient přenosu hmoty v biofilmu
K_{bw}	– rozdělovací koeficient biofilm-mezní vrstva vody
K_H	– Henryho konstanta
K_{mw}	– rozdělovací koeficient membrány a mezní vrstvy vody
k_o	– celkový koeficient přenosu hmoty
K_{sw}	– rozdělovací koeficient vzorkovač-voda (sampler-water)
k_w	– koeficient přenosu hmoty v mezní vrstvě vody
L	– délka difúzní cesty
LDPE	– polyethylen s nízkou hustotou (low density polyethylene)
LC/MS	– kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
$\ln c$	– přirozený logaritmus koncentrace
$\ln c_0$	– přirozený logaritmus koncentrace na počátku
$\log K_{ow}$	– logaritmus rozdělovacího koeficientu oktanol-voda
LOQ	– limit kvantifikace (limit of quantification)
M	– množství analytu
MESCO	– název vzorkovače (membrane enclosed sorptive coating)
M_r	– molekulová hmotnost
M_s	– hmotnost analytu naakumulovaná ve vzorkovači
m_s	– hmotnost sorbentu
metHb	– methemoglobin
nitro-PAHs	– nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky
N_{st}	– směrnice závislosti koncentraci na čase
o-DGT	– alternativa DGT vzorkovače pro organické látky
PAAs	– polycyklické aromatické uhlovodíky
PAHs	– polycyklické aromatické uhlovodíky

PCBs	– polychlorované bifenyly
PDMS	– polydimethylsiloxan
PES	– polyethersulfon
pK_a	– disociační konstanta
POCIS	– pasivní vzorkovač (polar organic chemical integrative sampler)
ppm	– částic v milionu (parts per million)
PRC	– referenční sloučeniny (performance reference compounds)
PTFE	– polytetrafluoroethylen
QQQ	– trojitý kvadrupól
r	– Pearsonův korelační koeficient
RE	– účinnost odstranění (removal efficiency)
rpm	– otáčky (revolutions per minute)
R_s	– vzorkovací rychlost
SDB-RPS	– styrendivinilbenzen se sulfonátovou reverzní fází
SPE	– extrakce na pevné fázi (solid phase microextraction)
SPMD	– vzorkovače se semipermeabilní membránou (semipermeable membrane devices)
SPME	– mikroextrakce na pevné fázi
t	– čas
$t_{0,5}$	– poločas života
TWA	– časově vážený průměr (time-weighted average)
U	– rychlost difúzního transportu
US EPA	– Agentura pro ochranu životního prostředí (U.S. Environmental Protection Agency)
δ	– tloušťka
δ_b	– tloušťka biofilmu
δ_m	– tloušťka membrány
δ_w	– tloušťka mezní vrstvy vody
	– *seznam zkratk aromatických aminů je uveden v kapitole 4.1

Seznam příloh

Ostatní přílohy

Příloha A Souhrn analytických, statistických a doplňkových dat doplňkova_data.pdf

1 Úvod

Voda je jednou z nejdůležitějších složek života na Zemi. Její kvalita má zásadní význam pro zdraví nejen lidí, ale také našich ekosystémů. Tato složka má hlavní roli v různých aspektech lidstva, ať už ji využíváme pro zemědělství, sanitaci, průmysl či pro splnění našich základních potřeb. Kvůli tomu je tento zdroj využíván lidskou činností více než jakékoliv jiné zdroje. Změna klimatu, nedostatek vody, hydromorfologické změny, rozsáhlá urbanizace či nadměrné znečišťování chemickými látkami, to všechno jsou výzvy, kterým vodstvo na Zemi čelí. Jsou to pak zejména obavy z chemického znečištění či ne příliš optimistické výsledky z pozorování ekologického stavu, které vedou k potřebě lepšího hodnocení, metod a ochranných opatření (Posthuma et al., 2019). V současnosti je používáno více než 145 000 chemických látek, přičemž ochranná opatření jako je směrnice o vodě (European Water Framework Directive) (Evropská komise a Rada, 2000) se věnují 0,2 % těchto látek (EEA, 2018; Malaj et al., 2014). Dalším problémem je, že řada opatření a limitů je stanovena pro látky samotné, ale ty se v životním prostředí nacházejí téměř vždy ve směsích, kdy se vzájemně ovlivňují a mohou své účinky potencovat (Muz et al., 2017).

Aromatické aminy jsou jedním z příkladů chemických látek kontaminujících vodní ekosystémy s prokázaným vlivem na mutagenitu povrchových vod. Řada z nich je také zařazena mezi karcinogeny dle IARC (IARC, 2023). O jejich toxických účincích víme již od 19. století (Rehn, 1895), a přesto, že jsou některé regulovány, se tyto sloučeniny vyskytují v životním prostředí jako produkty rozpadu každodenně používaných chemických látek. Nacházejí využití v nejrůznějších odvětvích, ať už při výrobě léčiv, pesticidů, barviv či kosmetických přípravků jako jsou laky na vlasy. Jsou také významným prekurzorem pro výrobu azobarviv, které tvoří 70 % hmotnosti všech vyprodukovaných barviv (ETAD, 2002). Většina aromatických aminů končí v odpadních vodách, z kterých se dostávají do čistíren odpadních vod. Zde však nemusí být odstraněny či dokonce může docházet k jejich vzniku během různých procesů probíhajících v čistírnách. Čistírny jsou tak považovány za jedny z nejvýznamnějších zdrojů aromatických aminů v povrchových vodách (Muz et al., 2017).

Díky jejich relativně vysoké polaritě a dobré rozpustnosti ve vodě tyto látky snadno pronikají do půdy, což může vést ke kontaminaci podzemní vody (Schmidt et al., 1999), potažmo i zdrojů pitné vody (Wang et al., 2011). I přes jejich prokázaný mutagenní vliv a zvýšenou pozornost na monitoring vodního prostředí, existují pouze omezené informace o výskytu a osudu aromatických aminů v povrchových vodách.

Většina monitoringu látek ve vodě je založena na bodových odběrech či kompozitních vzorcích, které bez dalšího zpracování mnohdy nejsou schopny zachytit stopové koncentrace, ve kterých se řada polutantů vyskytuje. Z bodových vzorků dostáváme pouze koncentraci v daný čas, přičemž přicházíme o informace koncentrací během epizodických událostí. Řešením bývá použití automatického vzorkování, zvýšení

počtu odběrů nebo navýšení odebíraných objemů, avšak tento přístup je velmi časově a finančně náročný. Se snahou čelit těmto nevýhodám vznikla v posledních desítkách let nová metoda, spolehlivá pro detekci širokého záběru polutantů. Jedná se o pasivní vzorkování, díky kterému jsme schopni se vyvarovat zmíněným problémům a získat časově vážené průměry koncentrací (Vrana et al., 2005).

V dnešní době je k dispozici mnoho druhů pasivních vzorkovačů, avšak v životním prostředí se nacházejí polutanty s velkou škálou vlastností, a proto je potřeba stále hledat efektivní a spolehlivé vzorkovače pro konkrétní skupiny látek. Z výše popsanych důvodů vznikla tato práce, jejíž cílem je pomoci objasnit kontaminaci povrchových a odpadních vod aromatickými aminy a pokusit se otestovat vhodné pasivní vzorkovače pro tuto specifickou skupinu látek.

2 Cíle

Tato práce se snaží dosáhnout několika cílů. V první řadě je to otestování a porovnání tří typů pasivních vzorkovačů v odpadní a povrchové vodě pro detekci aromatických aminů v těchto matricích. Díky použití pasivních vzorkovačů je možné detekovat i velmi malé koncentrace těchto látek, a tedy dalším cílem je zdokonalit monitoring těchto látek v odpadních a povrchových vodách a pomoci tak objasnit jejich osud v životním prostředí. Pro doplnění terénního experimentu je vybrán jeden typ vzorkovače, který je za laboratorních podmínek kalibrován. To umožňuje o vzorkovači získat přesnější kvantitativní informace, přesněji jaká je jeho vzorkovací rychlost pro jednotlivé látky v kontrolovaných podmínkách. Posledním cílem je porovnání vzorkovacích rychlostí získaných z kalibračního experimentu a terénního experimentu spolu s teoretickými vzorkovacími rychlostmi, které byly vypočítány z fyzikálně-chemických vlastností látek.

3 Problematika znečištění vod

3.1 Obecná charakteristika

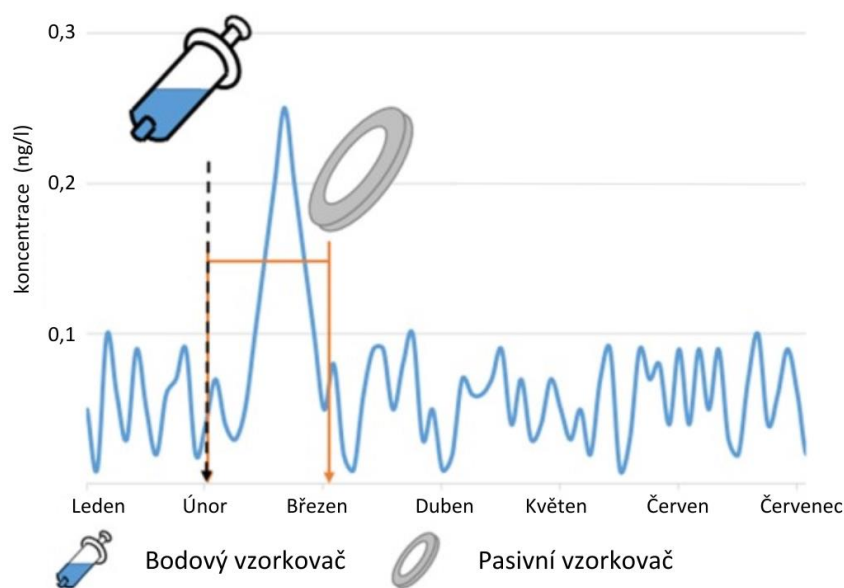
Každý den je do našeho životního prostředí vypouštěno velké množství chemických látek, ať už při jejich výrobě, používání či likvidování. Toto antropogenní znečišťování je vnímáno jako celosvětový problém, který přispívá k degradaci ekosystémů a má vliv na širokou škálu organismů. Vědci zabývající se životním prostředím upozorňují na fakt, že kromě starých historických zátěží chemickými látkami, se stále ve větším množství objevují i nové kontaminanty. Intenzivní zemědělství, chov zvířat a rostoucí urbanizace rozsáhlých částí země přispívají ke znečišťování vodních ploch a zvyšují poptávku po omezených zásobách sladké vody na Zemi. Rychlá urbanizace však probíhá i v oblastech s omezenými vodními zdroji, které musí být využívány k více účelům. V důsledku toho se vyčištěná odpadní voda používá k doplňování vodních zdrojů pro rekreaci či udržování životaschopných ekosystémů. Proto by měla být ochrana vodních zdrojů jednou z priorit 21. století (Daughton & Ternes, 1999; Kolpin et al., 2002).

Překvapivě doposud víme velmi málo informací o výskytu, transportu či celkovém osudu řady chemických syntetických látek v životním prostředí potom, co je použijeme. Obavy z přítomnosti těchto sloučenin v životním prostředí zahrnují vliv na různé fyziologické procesy, zvýšený výskyt nádorových onemocnění, zrychlený vývoj bakterií rezistentních vůči antibiotikům či potenciální zvýšená toxicita chemických směsí (Kolpin et al., 2002). Nejde pouze o lidskou populaci, ale také o vodní organismy, které jsou znečištění nepřetržitě vystavováni během celého životního cyklu i přes více generací. Zvláště znepokojující je možnost trvalého, ale přitom nezjistitelného nebo nepozorovaného působení na tyto organismy, protože účinky se mohou akumulovat tak pomalu, že zásadní změny nejsou zjištěny do chvíle, než kumulativní úroveň těchto účinků dosáhne nevratné změny (Daughton & Ternes, 1999).

Abychom pochopili transport, osud nebo potenciální toxicitu kontaminantů v prostředí, musíme být schopni změřit jejich koncentrace. Ve vodním prostředí se jedná o velmi nízké hodnoty, které navíc bývají hodně variabilní. Také jsou většinou sledované látky v rozpuštěné nebo biologicky dostupné formě, které mají pro nás nejvyšší významnost z hlediska sledování účinků na organismy (Luellen & Shea, 2002).

Monitoring polutantů ve vodním prostředí je také důležitý pro splňování legislativních rámců a nařízení, právě proto, že mnoho látek představuje významné riziko pro člověka a ekosystémy. Řada těchto látek byla zařazena mezi prioritní polutanty Agenturou pro ochranu životního prostředí (US EPA) nebo v rámcové směrnici EU pro vodní politiku (water framework directive) (Evropská komise a Rada, 2000; US EPA, 2014). Jelikož se vlastnosti napříč těmito látkami velmi liší, vymyslet vzorkovací techniky a analýzy pro tak široké spektrum látek je velká výzva. Další komplikací je i to, že většina látek se nachází ve směsích. Monitoring látek je ztížen i časovými a prostorovými

variace v množství polutantů přítomných v prostředí, což je dáno jejich tokem mezi různými složkami životního prostředí (Seethapathy et al., 2008). Většina monitorovacích programů je založena na bodových odběrech v daný čas, avšak většinou jsou polutanty přítomny ve stopových koncentracích, pro které je nutno odebrat velké množství vody. Následná laboratorní analýza představuje aktuální přehled o obsahu látek v době odběru vzorku, ale nezachycuje výkyvy koncentrací v čase, a epizodické události, například úniky a odtok dešťové vody, mohou být přehlédnuty. Tyto problémy lze vyřešit použitím automatických vzorkovacích zařízení, které jsou však velmi drahé a méně praktické než jiné metody (Vrana et al., 2005). Opakované vzorkování v krátkých časových intervalech pro zachycení epizodických událostí může být obtížné na provedení, a navíc je to finančně a organizačně náročné, zejména v odlehlých oblastech (Zhang et al., 2016). Řešením tedy může být využití pasivního vzorkování, které odebírá rozpuštěnou frakci látky. V rámci toxikologie je z hlediska hodnocení biologické dostupnosti pravděpodobně relevantnější než celková koncentrace. (Silvani et al., 2017). Porovnání můžeme sledovat na obrázku grafu zobrazující situaci, kdy bodový odběr nezachytil epizodickou událost, zatímco pasivní vzorkovač lépe zachytil danou situaci (Obrázek 1).



Obrázek 1: Porovnání bodového odběru vzorku a pasivního vzorkování (Surdyk et al., 2017)

Jednou z mnoha skupin látek, které se vyskytují ve vodě a pro které potřebujeme spolehlivé metody detekce, jsou aromatické aminy. Ty mohou kontaminovat všechny matrice, včetně vody a jídla. Kromě pracovní expozice jsou jím vystaveny i běžné populace lidí skrze různé expoziční cesty. Dle Chung (2015) představují aromatické aminy významnou hrozbu pro lidské zdraví pracovníků i široké veřejnosti. S vědomím jejich

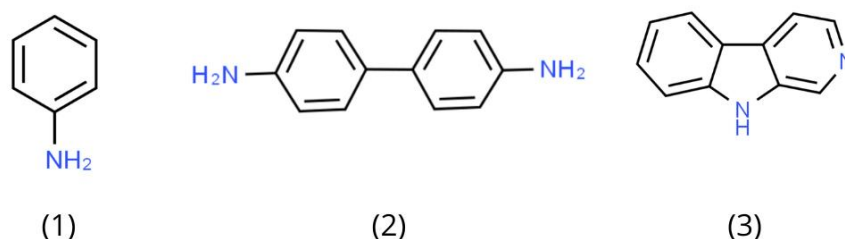
všudy přítomnosti a onemocnění, které způsobují, jsou aromatické aminy pravděpodobně jednou z nejdůležitějších skupin chemických látek, které jsou úzce spjaty s lidským zdravím a životním prostředím. Dle autora je nutností více investovat do studia osudu a účinků aromatických aminů.

Se snahou chránit životní prostředí a mít přehled o koncentracích aromatických aminů je potřeba hledat nové citlivé a přesné metody, které jsou schopny zachytit i velmi nízké koncentrace. V prostředí mohou aromatické aminy degradovat a také se ředit, takže mateřské látky a jejich metabolity jsou detekovány pouze ve stopovém množství skrze vysoce efektivní separační a vzorkovací metody (Fekete et al., 2010).

4 Aromatické aminy

4.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Aromatické sloučeniny jsou jednou z největších skupin organických látek přítomných v biosféře. Přítomnost benzenového kruhu a rezonanční struktury vedla k velké produkci a používání přírodních a xenobiotických aromatických látek, ale také přispěla k perzistenci takových látek, z nichž velká část je toxická (Pereira et al., 2015). Struktura aromatických aminů se skládá z jednoho či více aromatických kruhů, na který je přímo napojen jeden či více dusíků. Napříč celou skupinou aromatických aminů však můžeme najít velmi různorodé struktury. Od těch nejjednodušších typu anilin, až po velmi komplexní sloučeniny s konjugovanými nebo heterocyklickými strukturami a několika substituenty (Raquel et al., 2012). V současné době je jen z ANI vyráběno přes 300 chemických produktů a intermediátů. Na základě jejich struktury můžeme dělit aromatické aminy na monocyklické a polycyklické (Obrázek 2 Obrázek 1). V této práci jsou však zařazeny i heterocyklické aminy, které nespádají do kategorie aromatických aminů, stejně tak jsou zde zařazeny i dva nearomatické, a to CYHA a TBA.



Obrázek 2: Příklady struktur aromatických aminů - (1) monocyklický anilin, (2) polycyklický benzidin, (3) heterocyklický norharman

Jejich chemická aktivita záleží na umístění a struktuře aminové skupiny a aromatického kruhu (Pereira et al., 2015). Monocyklické aromatické aminy obsahují jeden aromatický kruh s alespoň jednou aminovou skupinou připojenou ke kruhu. Tento typ je nejjednodušší modifikací, a i velmi malé změny ve struktuře látky ovlivňují jejich mutagenní vlastnosti (Chung et al., 1997). Polycyklické aromatické aminy (PAAs) obsahují dva a více aromatických kruhů. Heterocyklické aromatické aminy (HAAs) se vyznačují tím, že v jejich aromatické struktuře je alespoň jeden uhlík nahrazen dusíkem. Vznikají po tepelné úpravě masa, kde tak zvyšují mutagenní účinky. Obecně je dělíme do dvou skupin, a to na pyrolitické, vznikající pyrolýzou aminokyselin při vysokých teplotách nad 250 °C, a aminoimidoazoareny, nebo také „termické HAA“, které vznikají

při tepelné úpravě za běžných teplot v rozmezí 150–250 °C (Alaejos & Afonso, 2011; Turesky, 2010).

Chemická reaktivita amino skupiny je závislá na mezomerních interakcích s aromatickým kruhem, což je dáno dalšími substituenty a sterickými faktory (Beland et al., 1997). Na základě těchto substitucí můžeme aromatické aminy dělit na primární, sekundární a terciární. Přehled některých fyzikálních a chemických vlastností pro aromatické aminy je uveden v tabulce (Tabulka 1).

Tabulka 1: Přehled základních fyzikálních a chemických vlastností aromatických aminů ze zdrojů (Pubchem, 2023)¹ a (Chemspider, 2023)²

název	zkratka	CAS	¹ M _r (g mol ⁻¹)	¹ pK _a	¹ log K _{ow}	² K _H (atm m ³ mol ⁻¹)
1-naftylamin	1NAPA	134-32-7	143,19	3,9	2,17	4,63E-07
2,6-xylidin	26XYL	87-62-7	121,18	3,9	1,86	2,5E-06
2-amino-3-methylimidazo(4,5-f)chinolin	IQ	76180-96-6	198,23	8,5	1,22	3,53E-13
2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]chinoxalin	MEIQX	77500-04-0	213,24	2,2	1,39	1,6E-13
2-amino-4-nitrotoluen	2A4NT	99-55-8	152,15	2,3	1,83	8,3E-09
2-aminobifenylyl	2AMB	90-41-5	169,23	3,8	2,68	1,73E-07
2-aminopyridin	2APY	504-29-0	94,12	6,9	0,48	2,5E-09
2-bromanilin	2BRA	615-36-1	172,02	2,5	2,19	-
2-naftylamin	2NAPA	91-59-8	143,19	4,2	2,17	8,1E-08
2-nitroanilin	2NITA	88-74-4	138,12	-0,3	1,83	5,9E-08
2,4'-Diaminotoluene	24DAT	95-80-7	122,17	5,35	0,14	7,43E-010
3,3'-dichlorbenzidin	33DCB	91-94-1	253,13	2,7	3,45	5,11E-11
3,3'-dimethylbenzidin	33DMB	119-93-7	212,29	4,6	2,48	6,3E-11
3'-aminoacetofenon	3AAP	99-03-6	135,16	3,4	0,69	3,47E-09
3-karbolin	3CARB	244-76-8	168,2	14,5	3,40	4,79E-10
3-chloro-o-toluidin	3CHOT	87-60-5	141,6	2,5	2,27	1,56E-06
4,4'-Methylenbis(2-chloroanilin)	MBOCA	101-14-4	267,15	3,3	3,59	1,1E-11
4,4'-Methylenebis(2-methylaniline)	MEMDA	838-88-0	226,32	5,2	2,56	1,81E-11
4,4'-Oxydianilin	44ODA	101-80-4	200,24	4,0	2,22	1,47E-011
4,4'-thiodianilin	44TDA	139-65-1	216,3	4,6	2,18	3,9E-12
4-aminobifenylyl	4AMB	92-67-1	169,23	4,4	2,77	1,5E-07
4-chloranilin	4CHA	106-47-8	127,57	4,2	1,76	3,1E-06
4-chloro-o-toluidin	4CHOT	95-69-2	141,6	3,4	2,22	2,00E-06
5-karbolin	5CARB	244-69-9	168,2	15	2,23	4,79E-10

název	zkratka	CAS	^1M_r (g mol ⁻¹)	^1pK_a	$^1\log K_{ow}$	^2K_H (atm m ³ mol ⁻¹)
Anilin	ANI	62-53-3	93,13	4,6	0,90	2,02E-06
Azobenzen	AZOB	103-33-3	182,23	-3	3,82	1,40E-05
Benzidin	BNZD	92-87-5	184,24	4,7	1,56	5,2E-11
Kumidin	CUMI	99-88-7	135,21	5	2,28	4,99E-06
Cyklohexylamin	CYHA	108-91-8	99,18	10,7	1,39	4,16E-06
Dianilinomethan	DADPM	101-77-9	198,24	5,3	1,64	5,3E-11
Difenylamin	DPHA	122-39-4	169,23	0,8	2,97	2,69E-06
Harman	HRMA	486-84-0	182,22	7,37	2,65	5,29E-10
Harmin	HRMI	442-51-3	212,25	7,7	3,17	6,43E-10
Michlerův keton	MICHK	90-94-8	199,27	2,6	3,87	4,91E-10
N-isopropyl-N'-fenyl- <i>p</i> -fenylenediamin	IPDD	101-72-4	226,32	6,8	2,83	1,4E-09
Norharman	NORH	244-63-3	168,2	15,4	2,80	4,79E-10
<i>o</i> -aminoazotoluen	OAAT	97-56-3	225,29	3	4,33	2,91E-08
<i>o</i> -Anisidin	OANI	90-04-0	123,16	4,5	1,09	9,3E-07
<i>o</i> -Dianisidin	ODAN	119-90-4	244,29	4,7	1,58	4,7E-11
<i>o</i> -Toluidin	OTLD	95-53-4	107,2	4,4	1,4	1,98E-06
<i>p</i> -Aminoazobenzene	PAAZB	60-09-3	197,24	2,8	3,41	8,7E-11
<i>p</i> -Aminodimethylanilin	DMPD	99-98-9	136,20	6,6	1,12	3,03E-08
<i>p</i> -Cresidin	PCRE	120-71-8	137,18	4,7	1,55	1,2E-07
Quaternium-15	Q15	4080-31-3	251,15	-	-0,1	-
Tributylamin	TBA	102-82-9	185,36	10	4,84	1,77E-03

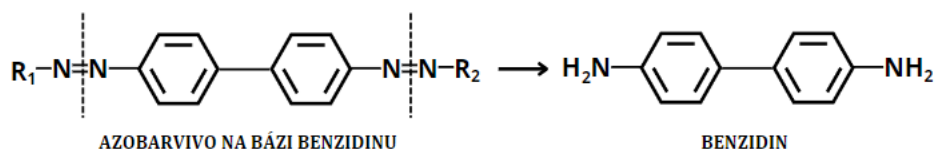
4.2 Azobarviva

Azo sloučeniny mají typickou strukturu $R-N=N-R'$, kde R nebo R' mohou být arylovou nebo alkylovou skupinou. Výroba azobarviv v minulosti vedla k velkému rozmachu chemického průmyslu. V 80. letech minulého století bylo zjištěno, že téměř 280 000 tun textilních barviv je ročně vypouštěno z průmyslových odtoků (Jin et al., 2007). Azo-barviva tvoří přibližně 70 % hmotnosti všech používaných barviv, což z nich dělá skupinu nejpoužívanějších syntetických barviv uvolňovaných do životního prostředí (ETAD, 2002). Jejich rezidua a degradační produkty v odpadních vodách ovlivňují kvalitu vody (Pandey et al., 2007). Odpadní vody s azobarvivy mají řadu nepříznivých dopadů na vodní prostředí, například ovlivňují celkový organický uhlík (TOC, z angl. total organic carbon), biochemickou spotřebu kyslíku (BSK), chemickou spotřebu kyslíku (CHSK), nerozpuštěné látky, slanost, barvu (Solís et al., 2012), mohou také snižovat průnik světla a rozpouštění plynů ve vodních plochách (Chequer et al., 2011).

Důležitým prekurzorem pro tvorbu azobarviv jsou právě aromatické aminy, jak již bylo zmíněno výše. Jejich používání zaručuje zářivé barvy, jsou největší skupinou barviv a tvoří více než polovinu celosvětové produkce barviv (Puvaneswari et al., 2006). V dnešní době je pravděpodobně používáno více jak 2000 různých azobarviv v množství větším než 7×10^5 tun (Zollinger, 1987). Našly uplatnění napříč téměř všemi průmysly, od výroby léčiv, papírů, tiskových barev, barev, laků, petroleje, vosků, plastů až po oblečení, kůži nebo barev na vlasy (Chung, 2016). Jejich vlastnosti, jako je stálost na světle nebo rezistence vůči mikrobiální degradaci, napovídá, že nejsou dobře odstraňovány při procesu čištění vody. Jen při používání azobarviv na produkty bylo stanoveno, že zhruba 10 % azobarviv při barvení není schopno vázat se na produkt, a tak odchází rovnou do odpadní vody (Hildenbrand et al., 1999; Puvaneswari et al., 2006).

Některým azobarvivům jsou připisovány karcinogenní účinky, zejména pak vznik rakoviny močového měchýře u pracovníků zpracovávající azobarviva (Puvaneswari et al., 2006). V lidském těle jsou biotransformací přeměněny na jejich prekurzory – tedy aromatické aminy. Avšak některá azobarviva mohou být přímo karcinogenní i bez přeměny v jejich parentální sloučeniny (Miller & Miller, 1948). Přítomnost azobarviv v odpadních vodách může vést dokonce k mnoha onemocněním sliznice v lidském těle, například k dermatitidě, perforaci nosní přepážky či silnému podráždění dýchacích cest (Chung, 2016). Kromě lidského zdraví je ovlivněno také zdraví vodních živočichů. Vznik rakoviny spojený s expozicí azobarvivům byl pozorován u některých druhů ryb (Abe et al., 2018). Proto se jejich odstraňování z odpadních a povrchových vod stalo environmentální výzvou (Liu et al., 2022; Saleh & Gupta, 2012).

Chung a Cerniglia (1992) uvedli, že azobarviva obsahují benzidin nebo p-fenylendiamin jako mutagenní komponenty. Podle IARC klasifikace jsou označena karcinogenní kategorií 1 všechna azobarviva, která jsou schopna se metabolizovat na benzidin (IARC, 2010) (Obrázek 3). Těmto azobarvivům říkáme azobarviva na bázi benzidinu nebo na bázi benzidinových kongenerů, kterými jsou například o-toluidin (3,3'-dimethylbenzidin), o-dianisidin (3,3'-dimethoxybenzidin) nebo 3,3'-dichlorbenzidin. Naštěstí se používání azobarviv na bázi benzidinu v minulém století snížilo (Chung, 2016). Byla totiž nalezena náhrada, a to 3,3'-5,5'-tetramethylbenzidin (TMB), u kterého nebyla prokázána mutagenita ani karcinogenita. Zdá se, že se jedná o jediný benzidinový analog, který takové účinky nevykazuje (Yang et al., 2008).



Obrázek 3: Znázornění přeměny azobarviva na bázi benzidinu na benzidin (Korinth et al., 2013)

4.3 Zdroje a osud v životním prostředí

Aromatické aminy jsou díky jejich hojnému využití v průmyslu všudypřítomné v životním prostředí. Mezi jejich hlavní průmyslové zdroje patří rafinace ropy, výroba barviv, kosmetiky, léčiv, gumy, textilií, agrochemikálií, výbušnin a také nachází uplatnění jako intermediáty v mnoha syntetických syntézách jako jsou polymery, barviva, adheziva či gumy, farmaceutika, pesticidy a výbušniny (Palmiotto et al., 2001). Nacházíme je i jako součást různých směsí znečišťujících životní prostředí jako jsou výfukové plyny, spaliny z pálení dřeva, gum, v kouři z cigaret a jsou obsaženy i v silničním asfaltu. Heterocyklické a polycyklické aminy dokonce vznikají při grilování masa nebo při tepelné úpravě za vysokých teplot (Combes & Haveland-Smith, 1982). Heterocyklické aromatické aminy typu aminoimidoazaarenů vznikají v důsledku reakce specifických reaktivních karbonylů s amoniakem a kreatininem. Mezi nejvýznamnější heterocyklické aromatické aminy tohoto typu patří 2-amino-1-methylimidazol(4,5-f) (IQ), 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-]quinolin (MeIQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazol(4,5-f)chinoxalin (MeIQx) a 2-amino-1-methylfenylimidazol(4,5-b)pyridin (PhIP) (Hidalgo & Zamora, 2022).

V jídle vznikají prostřednictvím tří až čtyř reakcí. Prvním je reakce kreatininu s reaktivním karbonylem, která vede ke vzniku aduktů. Druhým krokem je přeměna existující karbonylové skupiny na amino skupinu, což je způsobeno reakcí amoniaku s aduktem vzniklým v prvním kroku. Třetím krokem je karbonyl-amin reakce, která spočívá v reakci nově přichozícího karbonylu a aduktu s amino skupinou z druhého kroku. Pro většinu termických HAAs končí formování v tomto třetím kroku. Pro sloučeninu MeIQ a látkám s podobnou strukturou je zapotřebí ještě jeden uhlík, proto se reakce opakují, dokud nevznikne stabilní produkt. Vznik a obsah těchto heterocyklických aromatických aminů závisí především na teplotě, době tepelného upravování a pH, přičemž nižší pH (docíleno například marinováním masa) je spojováno s nižším obsahem HAAs (Hidalgo & Zamora, 2022). V případě pyrolitických HAA, jak už z názvu vyplývá, dochází k jejich formování pyrolitickou reakcí mezi aminokyselinami a proteiny. Během radikálových reakcí vznikají reaktivní fragmenty, které dávají vzniku novým heterocyklickým strukturám díky vzniku volných radikálů i pyrolitických mutagenů (Alaejos & Afonso, 2011). Kromě masa mohou vznikat i při pyrolýze rostlinných bílkovin jako je například sójový globulin nebo bílkoviny obsažené v savčím mléce – kasein (Turesky, 2010). Avšak je obtížné potvrdit přímý vztah obsahu HAAs v jídle a vzniku rakoviny, jelikož zde záleží na dalších faktorech jako je obsah polycyklických aromatických uhlovodíků, akrylamidu, vysokého obsahu tuků a solí apod. (Wakabayashi et al., 1993).

Dalším zdrojem je biotická a abiotická degradace nitroaromatických sloučenin, různých pesticidů a pravděpodobně i polyurethanů (Schmidt et al., 1998). Primární aminy používané v adhezivních směsích v obalových materiálech jsou dokonce schopny uvolňovat se do potravin (Fekete et al., 2010). Chung et al. (1978) ve své

publikaci uvedli, že střevní mikrobiota může produkovat aromatické aminy rozkládáním azobarviv přijímaných v potravě a kontaminované vodě. Platzek et al. (1999) zase ve své publikaci uvádějí, že azobarviva dokážou rozložit na aromatické aminy bakterie přítomné v lidské kůži. Dále mohou vznikat redukcí nitrovaných polycyklických aromatických uhlovodíků (nitro-PAHs) anaerobními bakteriemi, které se vyskytují v lidském střevě (Rafii et al., 1991).

Skutečnost, že se používají ve významných průmyslových odvětvích, vedla k jejich rozšíření do všech složek životního prostředí – vody, vzduchu i půdy, což vede k riziku expozice člověka. Jelikož mnoho z těchto látek je toxických a potenciálně karcinogenních, stávají se významnou skupinou environmentálních polutantů, které vyvolávají obavy (Pereira et al., 2015).

Výskyt aromatických aminů v ovzduší je připisován výrobním procesům, výfukovým plynům, spalování a pyrolýze rostlinných materiálů jako je dřevo nebo tabák. Vysoké koncentrace ANI a p-toluidinu byly detekovány v oblasti skladů odpadu uhlí v jedné z provincií v Turecku (Akyüz, 2007). Cigaretový kouř patří mezi významné zdroje aromatických aminů ve vnitřním prostředí, kde nejvíce rizikovými skupinami jsou děti, starší osoby a osoby s chronickým onemocněním, které tráví nejvíce času uvnitř (Zhu & Aikawa, 2004). V cigaretovém kouři je obsaženo více různých aromatických aminů, které přispívají ke vzniku rakoviny močového měchýře u kuřáků. Avšak hemoglobinové adukty, které jsou typickými biomarkery pro expozici aromatických aminů, byly nalezeny i u nekuřáků, což nasvědčuje riziku i při pasivním kouření (Raquel et al., 2012). Zajímavou informací je, že aminy vznikají pyrolýzou aminokyselin obsažených v tabáku a jsou více uvolňovány kouřem, který vychází z druhého konce cigarety, než který inhaluje kuřák (Patrianakos & Hoffmann, 1979). Ve výzkumu Palmiotto et al. (2001) uvádějí, že kontaminace aromatickými aminy je celosvětový problém jak ve vnějším, tak ve vnitřním prostředí. Podle autorů je výskyt aminů uvnitř budov způsoben jejich přítomností v barvách a čistících prostředcích, avšak konstatují, že je obtížné objasnit zdroje co se týče vnějších prostorů, jelikož byly detekovány i v oblastech, které jsou považovány za „čisté“.

Výskyt ve vodě je běžný v důsledku vypouštění aromatických aminů přímo z průmyslových odtoků nebo nepřímo rozpadem produktů s jejich obsahem, například pesticidů (Zhu et al., 2002). U některých průmyslů, zejména u textilních, dochází k vypouštění polutantů, které dokonce mohou měnit barvu vody a mít účinek na vodní organismy (Ferraz et al., 2011). V tomto průmyslu je nejběžnější anilin a jeho deriváty. Vysoká rozpustnost aminů ve vodě jim umožňuje permeaci půdou a kontaminaci podzemní vody (Cavallaro et al., 1995), potažmo i pitné vody (Wang et al., 2011). Jurado-Sánchez et al. (2012) ve své studii zkoumali přítomnost AAs v procesu úpravy pitné vody při použití chlorace. Ještě před jakoukoliv úpravou byl ve vodě přítomen (do koncentrace 18 ng L⁻¹) anilin, 3-chloranilin, 3,4-dichloranilin a N-nitrosodimethylamin. Bylo zjištěno, že jejich koncentrace se zvýšila až 10x a vzniklo 9 nových aminů (4 aromatické a 5 N-nitrosaminů). Také byl pozorován větší výskyt v upravené vodě AAs po

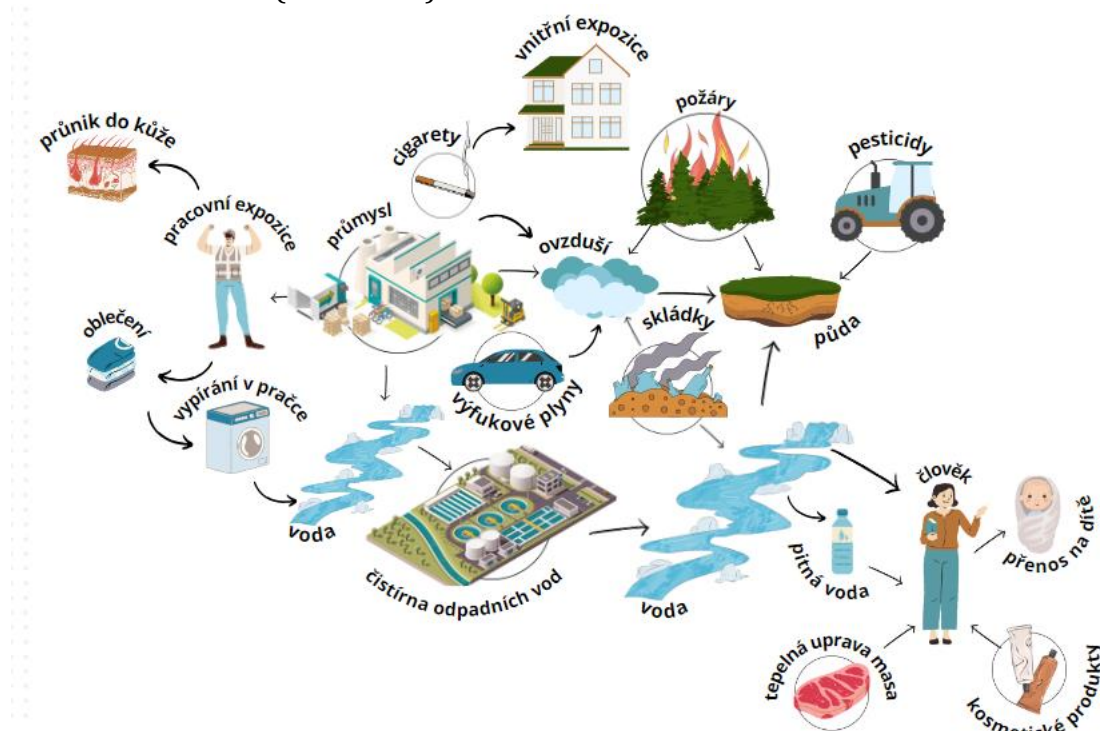
dešťích. Tento vyšší výskyt může být vysvětlen splachem pesticidů a degradačních produktů s obsahem AAs do povrchových vod. Shach & Mitch (2012) ve své studii uvádějí, že vznik výsledných produktů závisí na přítomných aminových prekurzorech. Bylo upozorováno, že primární aminy vedou ke vzniku halonitrilů, haloamidů a halonitroalkanů, zatímco sekundární a terciární aminy vedou ke vzniku nitrosaminů.

Dalším zdrojem mohou být například cigaretové nedopalky. Ve studii Dobara-daran et al. (2023) zkoumali výluhy nedopalků z cigaret, jakožto jeden z nejčastějších odpadů v našem životním prostředí. Průměrná koncentrace, která se uvolnila z nedopalků do říční vody byla 556 ng L^{-1} , přičemž amin, kterého se uvolnilo nejvíce, byl anilin.

Některé studie ukazují, že se aromatické aminy ukládají i do sedimentů. Akyuz & Ata (2006) zkoumali vodní toky významně ovlivněné odpadními vodami a detekovali relativně vysoké koncentrace některých aminů jak ve vzorcích vody, tak ve vzorcích sedimentů. Zpozorovali například i výskyt 4-ethylalaninu ve vzorcích sedimentu, ale nikoliv ve vodě. Výskyt aminů se měnil i s ročním obdobím. Vyšší koncentrace aminů detekovali v zimním období než v letním. V Brazílii byl zkoumán vliv výroby azo barviv na okolní vodní toky a bylo shledáno, že výpusť z této továrny je zdrojem mutagenní aktivity. Alarmující je i informace, že v blízké vzdálenosti se nachází výrobní pitné vody, u které bylo zjištěno, že nedokáže odstranit tyto kontaminanty. Voda, která je pak používána pro spotřebu člověka, vykazovala mutagenní aktivitu kvůli obsahu nitro-aromatických a aromatických aminů. Autoři se domnívají že právě továrna na azobarviva je zdrojem těchto látek v dané oblasti (De Aragão Umbuzeiro et al., 2004, 2005).

Půda má mnoho zásadních rolí a její degradace vede ke ztrátě ekologických a produkčních hodnot. Jednou z příčin degradace půdy je právě chemické znečištění. Polutanty negativně ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti půdy a její biologickou aktivitu (Fekete et al., 2010). Zdrojem aromatických aminů v půdě jsou průmyslové výpusťe, fosilní paliva, pevné odpady nebo aerosoly ze spalovacích procesů. Některý výskyt je spojován i s mikrobiální degradací a vodou kontaminovanou výbušnými látkami (Alzaga et al., 1999). Příkladem je dinitrotoluen (DNT), který je v prostředí redukován mikroorganismy na aromatické aminy, čímž dochází ke kontaminaci podzemní vody (Chung, 2015). V půdě mohou nastat různé děje a procesy, avšak tři dominují, a to hydrofobické rozdělování neutrálních aminů do pevné matrice, tvorba kovalentní vazby s pevnou fází povrchu reaktivních skupin, nebo elektrostatická interakce kladně nabitých aminů se záporně nabitými místy na půdních částicích. Tyto procesy jsou závislé na čase. Zprvu můžeme očekávat elektrostatickou interakci a hydrofobické rozdělování a později pomalou tvorbu kovalentních vazeb (Donaldson & Nyman, 2006; Weber et al., 2001). Průběh procesů závisí i na typu aminu, jeho pK_a ve vztahu k pH a dostupnosti vazebných míst v půdě. Během 24 hodin je sorpce primárně vratná s dominancí kationtové výměny jako sorpčního mechanismu (Li & Lee, 1999). Roli má i obsah organického uhlíku, rozpustnost, kapacita kationtové výměny a distribuce půdních částic

(Donaldson & Nyman, 2006). Osud aromatických aminů a provázanost jejich zdrojů je znázorněna na obrázku (Obrázek 4).



Obrázek 4: Přehled zdrojů aromatických aminů a jejich propojenosti

4.4 Vliv na zdraví

O potenciálu aromatických aminů způsobovat rakovinu víme již dlouho. První zmínky se objevují v roce 1895, kde byla popsána rakovina močového měchýře spojovaná s pracovní expozicí při výrobě anilinových barviv v Německu (Rehn, 1895). Německo v té době produkovalo více jak 80 % světových zásob ANI, čímž se incidence vzniku rakovin močového měchýře zvyšovala. Zvýšený vznik rakoviny se však začal objevovat i v jiných státech, kde docházelo k produkci ANI (Kriek, 1974). Zprvu byla nemoc pojmenována jako „anilinová rakovina“, ale později se přišlo na to, že anilin sám o sobě není karcinogenní (Case & Pearson, 1954). Vědci se domnívali, že za vznikem rakoviny stojí jiné aromatické aminy, jako například 4-aminobiphenyl nebo benzidin, a toto tvrzení se později prokázalo jako pravdivé řadou laboratorních testů (Walpole et al., 1952). I přes hromadící se důkazy o karcinogenitě aromatických aminů nebylo jejich používání zastaveno ani omezeno. Ba naopak, benzidin i 4-aminobifenyl byly hojně využívány jako antioxidanty v pryžovém průmyslu. Vyšší incidence rakoviny se tedy přesunula i do jiných průmyslových odvětví, zejména pak u pracovníků ve zmiňovaném

pryžovém průmyslu, ale i v elektrikářském průmyslu při výrobě izolace kabelů (Davies, 1965).

Při zaměstnání dochází zejména k inhalační a dermální expozici. Hlavní cesty průniku aromatických aminů do těla se liší napříč celou skupinou na základě jejich fyzikálních a chemických vlastností (Wellner et al., 2008). Nicméně u některých aromatických aminů byla absorpce kůží považována za významnou expoziční cestu, která výrazně přispívala k celkovému obsahu aminů v těle (Shah & Guthrie, 1983). Obecně platí, že menší molekuly lépe pronikají kůží (Korinth et al., 2013).

V současné době patří rakovina močového měchýře k deseti nejčastějším typům rakoviny, přičemž její výskyt je vyšší u mužů, kde je šestou nejčastější. Vyšší výskyt u mužského pohlaví je zřejmě dán vyšší prevalencí kouření u mužů než u žen. V dnešní době je pracovní expozice aromatickým aminům stále považována jako rizikový faktor vzniku této rakoviny (Van Hoogstraten et al., 2023). Dobrou zprávou však je, že rakovina močového měchýře z pracovní expozice klesá zejména v západních státech Evropy, v důsledku zákazu řady aromatických aminů (Pesch et al., 2014). Jejich omezování je dále diskutováno v další podkapitole. Avšak v méně rozvinutých zemích je předpokládán nárůst incidence rakoviny močového měchýře v důsledku rozšíření kouření, které je spojováno s ekonomickým růstem (Ploeg et al., 2009).

Kromě karcinogenních účinků mohou být aromatické aminy také mutagenní a hemotoxické (Benigni & Passerini, 2002). Indukce mutací v kritických cílových genech je zásadní prvek ve vícestupňové tumorigenezi (Beland & Poirier, 1989). Karcinogenní potenciál aromatických aminů spočívá v jejich hydrofobicitě, sterických a dalších vlastnostech, jako je reaktivita či náchylnost k metabolické přeměně (Benigni & Passerini, 2002).

Aromatické aminy jsou jednou z nejlépe popsanych skupin, co se týče karcinogenního účinku (Lai et al., 1996). Rakovina močového měchýře u mužů je nejsledovanějším typem nádoru a je připisována právě expozici aminům, ať už v komplexních směsích nebo jednotlivým látkám. Karcinogenní účinek chemických látek bývá často aktivován až tehdy, kdy projdou metabolickou aktivací, a u aromatických aminů tomu není jinak (Kadlubar & Beland, 1985). Na metabolické aktivaci aminové skupiny závisí jak akutní, tak chronická toxicita (Guengerich, 2002). Prvním krokem bývá zpravidla N-oxidace, kdy vznikají N-hydroxyarylaminy a N-hydroxyarylamidy, což se děje díky cytochromu P450 v játrech. Kromě tohoto hlavního typu aktivace mohou být ještě některé aminy přeměňovány na elektrofilní deriváty cestou oxidace kruhu. N-hydroxyarylaminy, iminochinony a epoxidové deriváty jsou přímé elektrofilní metabolity, zatímco N-hydroxyarylamidy nejdříve vyžadují esterifikaci, aby byly schopné reagovat s DNA (Kadlubar & Beland, 1985). Například 1-naftylamin byl zprvu považován za karcinogenní látku, avšak testy na zvířatech tuto domněnku nepotvrdily. Tato skutečnost byla připsána neschopnosti 1-naftylaminu být metabolizovaný na reaktivní elektrofil (Hammons et al., 1985). Ale bylo prokázáno, že jeho oxidovaná forma N-hydroxy-1-naftylamin je silně tumorigenní. Tato oxidovaná forma se váže na DNA za vzniku DNA

aduktu, reakcí arylového dusíku a uhlíku v orto pozici na O6 v deoxyguanosinu (Kadlubar et al., 1978). Reakce N-hydroxyarylamínů s DNA probíhá skrze protonovaný pár nitreniového iontu (Kadlubar & Beland, 1985). Stabilita tohoto reakčního meziprodktu se tedy jeví jako rozhodující při určování biologické aktivity aromatických aminů (Benigni et al., 2000).

Dalším prvkem, který hraje roli zejména při určování orgánové specifity, je polymorfismus a rozdílná distribuce enzymů podílejících se na metabolické aktivaci. Například pokud N-oxidaci předchází N-acetylace, dostupná koncentrace N-hydroxyarylamínů pro přesun do močového měchýře je menší (Beland et al., 1990). Z čehož vyplývá, že jednotlivci s rychlým acetylátorovým fenotypem mají menší riziko onemocnění tohoto orgánu (Hein, 1988). Zajímavostí je, že psi nejsou schopni N-acetylace, takže výskyt této rakoviny je u nich vyšší. Bohužel s touto výhodou se pojí i nevýhoda, a to, že tyto jedinci jsou naopak více náchylní k rakovině střeva (Beland et al., 1990).

Při zkoumání role struktury látky v jejím karcinogenním potenciálu bylo stanoveno několik pravidel. Důležité je, aby struktura obsahovala aromatický kruh a aminovou nebo amino-tvořící skupinu jako jsou hydroxylamino, nitro nebo nitroso skupiny. Dále záleží také na tom, kolik aromatických kruhů ve struktuře je, povaha a pozice aminové a amino-tvořící skupiny, počet a povaha dalších substituentů, které jsou součástí struktury, a nakonec velikost, tvar a polarita celé sloučeniny. Kruhové substituenty ovlivňují karcinogenitu zejména skrze sterický efekt, přičemž bylo pozorováno, že čím větší je substituent (zejména v orto pozici), tím menší je potenciál (Lai et al., 1996). Výjimkou je substituce chloro nebo methyl/methoxy skupiny v orto pozici, což naopak zvyšuje aktivitu (Esancy et al., 1990; Milman & Peterson, 1984). To potvrzují i Beland et al. (1997), kteří uvádí, že pokud je methylová skupina lokalizovaná v ortho pozici vůči aminové skupině, tak se výrazně zvyšuje mutagenicita a tumorigenicita ve srovnání s nemetylovaným aromatickým aminem. Co se týká povahy aromatického kruhu, při bioaktivaci je rychlost-omezujícím krokem odchod acyloxy aniontu. Odchod této skupiny je dán silou konjugace, která se zvyšuje od fenylu k vyšším arylovým strukturám. Tento vliv lze vidět na příkladu ANI (jeden fenylový aromatický kruh), který je slabším karcinogenem než benzidin nebo beta-naftylamin (dva fenylové kruhy) (Katritzky et al., 2000).

Jak již bylo zmíněno výše, aromatické aminy mohou být také hemotoxické. Jako příkladem může být anilin, který je v játrech N-oxidován na fenylhydroxylamin a následně ko-oxidován na nitrosobenzen a Fe^{2+} -hemoglobin na Fe^{3+} -methemoglobin (methHb). Tento typ hemoglobinu neváže kyslík, a tak vzniká hypoxie. Obě tyto reakce jsou reverzní. A záleží na dostupnosti redukovaného glutationu, který má na starosti udržování přiměřené hladiny methHb. Například na pracovišti je množství methHb obsaženého v krvi stanovena jako bezpečná, pokud nepřesáhne 5 % z celkového množství. Ve studii Khan et al. (1997) došli k závěru, že škodlivé účinky nastávají jen tehdy, je-li slezina přetížená odbouráváním poškozených erytrocytů. Jedním z možných vysvětlení je, že poškozené erytrocyty se stávají více rigidní a buňky jsou sekvestrovány a

degradovány slezinou. Během tohoto procesu dochází k uvolňování železa, což může vést k aktivaci kyslíku, potažmo až k poškození DNA (Ciccoli et al., 1999). Ve stejnou dobu dochází také k oxidaci lipidů a proteinů a hem je ve velké míře degradován. Všechny tyto reakce dohromady přispívají k cytotoxicitě (Pauluhn, 2004).

Přítomnost aromatických aminů byla zkoumána i v mateřském mléce. Thompson et al. (2002) zkoumali mutagenitu a výskyt aduktů v mateřském mléce u 50 žen, přičemž u 66 % žen byl potvrzen výskyt aduktů připisovaných 4-aminobifenylu. Mutagenní aktivita mateřského mléka byla prokázána u 88 % žen.

4.5 Legislativa a omezení

Důkazů o škodlivých účincích aromatických aminů je přemnoho, a proto Evropská Unie několik z nich zakázala. Zákaz platí i na určitá azobarviva, která se mohou za redukčních podmínek (i v lidském střevě nebo díky jaterním enzymům) rozkládat na aromatické aminy. Dle Evropské Směrnice Evropského parlamentu 2002/61/ES z července roku 2002 Evropská Unie rozhodla, že do 11. září 2003 budou harmonizovány právní předpisy týkající se některých azobarviv ve spotřebním zboží. Aby bylo lidské zdraví chráněno, musí být azobarviva, která se mohou rozkládat za vzniku aromatických aminů, zakázána v produktech, kde převyšují koncentraci 30 ppm (nebo 30 mg kg⁻¹, 0,003 % hmotnostních). Jedná se o textilní a kožené produkty, které slouží ke spotřebě a při kterých dochází pravidelně ke styku s kůží nebo kde hrozí riziko expozice orální cestou (Chung, 2015). Těmito produkty mohou být různé oděvy, lůžkoviny, ručníky, klobouky, pleny, spací pytle, kabelky, hračky z textilu nebo příze a textilie určené pro konečného spotřebitele. Tato směrnice byla později zařazena do nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006, které platí dodnes (Evropský Parlament a Rada, 2006). Přehled aromatických aminů, kterých se to týká je zobrazen v tabulce (Tabulka 2).

Tabulka 2: Seznam aromatických aminů podléhajících nařízení Evropské komise a Rady č. 1907/2006 (REACH) (Evropský Parlament a Rada, 2006)

název	CAS
Bifenyl-4-ylamin 4-aminovifenyl xenylamin	92-67-1
Benzidin	92-87-5
4-chlor-o-toluidin	95-69-2
2-naftylamin	91-59-8
2-methyl-4-(2-methylfenylazo) anilin o-aminoazotoluen 4-amino-3,2'-dimethylazobenzen 4-otolylazo-o-toluidin	97-56-3
5-nitro-o-toluidin	99-55-8
4-chloranilin	106-47-8
4-methoxy-m-fenylendiamin	615-05-4
4,4'-methyldianilin 4,4'-diaminodifenylmethan	101-77-9
3,3'-dichlorbenzidin 3,3'-dichlorbifenyl-4,4'-ylendiamin	91-94-1
3,3'-dimethoxybenzidin o-dianisidin	119-90-4
3,3'-dimethylbenzidin 4,4'-bis-o-toluidin	119-93-7
4,4'-methylen-di-o-toluidin	838-88-0
6-methoxy-m-toluidin p-kresidin	120-71-8
4,4'-methylen-bis-(2-chloranilin) 2,2'-dichlor-4,4'-methylen-dianilin	101-14-4
4,4'-oxydianilin	101-8-4
4,4'-thiodianilin	139-65-1
o-toluidin 2-methylanilin	95-53-4
4-methylbenzen-m-fenylendiamin	95-80-7
2,4,5-trimethylanilin	137-17-7
o-anisidin 2-methoxyanilin	90-04-0
4-amino azobenzen	60-09-3

5 Pasivní vzorkování

5.1 Obecná charakteristika

Jedním z řešení, jak látky v životním prostředí sledovat efektivně, je pasivní vzorkování. To zahrnuje měření koncentrací analytů ve formě váženého průměru z celé doby vzorkování. Koncentrace analytu je integrována po celou expoziční dobu, čímž se tato metoda vyhýbá náhodným nebo extrémním výkyvům v koncentraci. Takto získané koncentrace poskytují dlouhodobý přehled o výskytu polutantu v prostředí (Namiéšnik et al., 2005).

Pasivní vzorkování lze obecně popsat jako vzorkovací techniku založenou na volném toku analytu ze vzorkovaného média do sběrného média vzorkovače podle Fickova 1. zákona. Tento děj je založen na rozdílu chemických potenciálů mezi dvěma médii. Množství analytu ve sběrném médiu narůstá do té doby, než se dosáhne rovnovážného stavu nebo pokud je vzorkování ukončeno. V případě dosažení rovnovážného stavu probíhá tok oběma směry stejnou rychlostí. Sběrné médium může být rozpouštědlo, chemické činidlo nebo porézní adsorbent. Příjem látek do vzorkovače je dán diferenciální rovnicí dle vztahu:

$$\frac{dc_s}{dt} = \frac{Ak_0}{m_s} \left(c_w - \frac{c_s}{K_{sw}} \right) \quad (1)$$

Kde c_s (ng kg⁻¹) představuje koncentraci látky přijímanou do vzorkovače za čas t (dny), c_w (ng L⁻¹) koncentraci analytu ve vodě, k_0 (L m⁻² den⁻¹) představuje koeficient přenosu hmoty, A (m²) plochu vzorkovače, m_s (kg) hmotnost sorbentu a K_{sw} (L kg⁻¹) je distribuční koeficient sorbent/voda pro danou látku. Na příjem látek do vzorkovače působí celkový odpor, který je převrácenou hodnotou koeficientu přenosu hmoty, a je součtem odporů jednotlivých bariér, například:

$$\frac{1}{k_0} = \frac{1}{k_w} + \frac{1}{k_b K_{bw}} + \frac{1}{k_m K_{mw}} \quad (2)$$

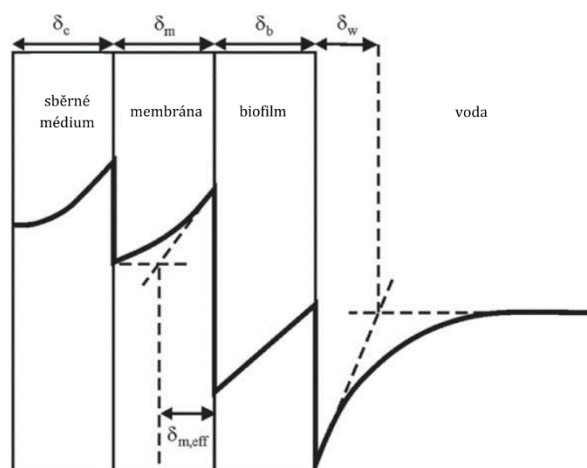
Kde k_w představuje koeficient přenosu hmoty pro mezní vrstvu vody, k_b pro biofilm a k_m pro membránu. K_{bw} a K_{mw} jsou pak rozdělovací koeficienty pro rozhraní biofilm/voda a membrána/voda. Pokud bereme v potaz, že koeficient přenosu hmoty k_0 je roven poměru difúzních koeficientů a tloušťkám jednotlivých bariér δ (cm), můžeme rovnici upravit:

$$\frac{1}{k_0} = \frac{\delta_w}{D_w} + \frac{\delta_m}{D_m K_{mw}} + \frac{\delta_b}{D_b K_{bw}} \quad (3)$$

Parametr Ak_0 z rovnice (1) může být také vyjádřen jako vzorkovací rychlost R_s :

$$R_s = k_o A \quad (4)$$

R_s lze také chápat jako objem vody zbavené analytu vzorkovacím zařízením za jednotku expoziční doby (Booij et al., 2007). Z tohoto vztahu je patrné, že vzorkovací rychlosti jsou lineárně úměrné vzorkovací ploše vzorkovače, proto při porovnávání vzorkovacích rychlostí mezi různými typy vzorkovačů je nutné vzít v potaz právě vzorkovací plochu vzorkovače. Jednotlivé bariéry vytvářející rezistenci vůči příjmu látek do vzorkovače jsou zobrazeny na obrázku (Obrázek 5).



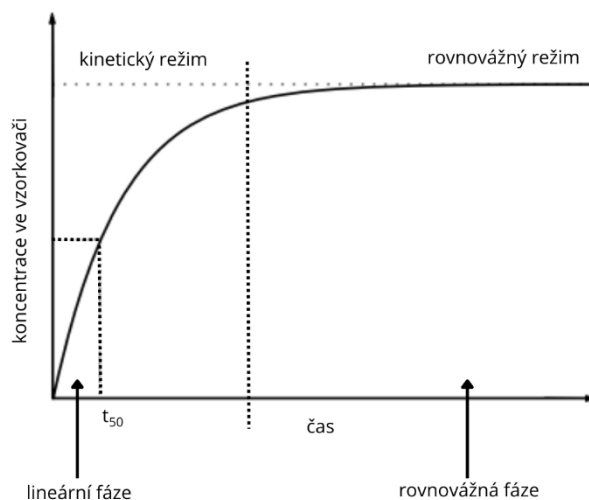
Obrázek 5: Zobrazení jednotlivých bariér vytvářející rezistenci vůči příjmu látek do vzorkovače (Booij et al., 2007)

Pokud je koncentrace ve vzorkovači na počátku nulová, řešením diferenciální rovnice (1) je tvar:

$$c_s(t) = c_w \frac{k_1}{k_2} (1 - e^{-k_2 t}) \quad (5)$$

Kde $c_s(t)$ představuje koncentraci analytu ve vzorkovači v daném čase t , c_w značí koncentraci analytu ve vodním prostředí a k_1 , respektive k_2 představují rychlostní konstanty příjmu do vzorkovače a zpětného toku analytů.

Vzorkování může probíhat ve dvou režimech (Obrázek 6). Jedná se o režim kinetický a rovnovážný (Vrana et al., 2005). Pasivní vzorkovač může fungovat v těchto režimech nebo v určitém rozmezí mezi nimi, což záleží na typu bariéry, sorpčním materiálu, geometrii vzorkovače a samozřejmě také na vzorkovacím čase (Seethapathy et al., 2008).



Obrázek 6: Grafické znázornění průběhu pasivního vzorkování (Vrana et al., 2005)

Při rovnovážném režimu je doba expozice delší, aby byl dostatek času pro ustanovení termodynamické rovnováhy mezi vodou a referenční fází. Princip činnosti takového vzorkovače je, že pokud se koncentrace v expozičním médiu stane konstantní (nedochází k další akumulaci analytu ve sběrném médiu), tak po dosažení rovnováhy se koncentrace analytu ve sběrném médiu nebude měnit (Górecki & Namienik, 2002). Pro tento režim lze zjednodušit rovnici (5):

$$c_s = c_w \frac{k_1}{k_2} = c_w K_{sw} \quad (6)$$

Kde K_{sw} představuje distribuční koeficient mezi referenční fází a vodou. Je zde potřeba dodržet několik podmínek, zejména to, aby vzorkovací zařízení vzorkovalo dostatečný objem. Tento objem je charakterizován konstantou přenosu hmoty k_1 , která kvantifikuje množství vzorkované vody za vymezený časový úsek. Konstanta přenosu hmoty je významně ovlivňována vzorkovacími podmínkami. Co lze ovlivnit je například velikost a geometrie vzorkovače. Obecně platí, že při větším ploše vzorkovače je i rychlejší vzorkování (Mayer et al., 2003).

Při kinetickém režimu je využíváno předpokladu, že rychlost přenosu hmoty do sběrného média je lineárně úměrná rozdílu chemické aktivity kontaminantu mezi vodní a referenční fází. V této lineární fázi lze zanedbat desorpci analytu z referenční fáze, tedy rovnice je redukována následovně (5):

$$c_s(t) = c_w k_1 t \quad (7)$$

Tento vztah může být dále upraven:

$$M_s = c_w R_s t \quad (8)$$

Kde $M_s(t)$ je hmotnost analytu, který se naakumuloval v referenční fázi za čas t .

Pokud je R_s známo, s pomocí expoziční doby t a množství analytu zachyceného v referenční fázi $M_s(t)$ lze vypočítat c_w , neboli časově vážený průměr (TWA, z angl. slova time-weighted average) koncentrace znečišťující látky ve vodní fázi. Pro většinu vzorkovacích zařízení platí, že R_s se nemění v závislosti na c_w , zato může být často ovlivněna prouděním vody, turbulencí, teplotními podmínkami či biologickým znečištěním. Biologické znečištění vzniká přirozeně na površích ponořených ve vodě. Většinou se jedná o bakterie a různou floru či faunu, které na povrchu tvoří biofilm. Tloušťka takového biofilmu se liší pro různé expozice a místa. Se zvyšující se tloušťkou biofilmu nebo blokací pórů při difúzi biologické znečištění vytváří odpor pro přenos analytů a ovlivňuje tak proces vzorkování. Organismy tvořící biofilm mohou navíc narušit povrch membrán, pokud jsou tvořeny z rozkladatelného materiálu (Vrana et al., 2005).

Výhodou vzorkování v kinetickém režimu je, že dokáže zachytit kontaminanty z epizodických událostí, které jsou obtížně detekovatelné při bodovém odběru vzorků. Velký význam spočívá také v tom, že jsme schopni zachytit i velmi nízké koncentrace v delších časových úsecích, které jsou však z toxikologického hlediska velmi relevantní (Vrana et al., 2005).

Pasivní vzorkovače obvykle spojují několik kroků v jeden – vzorkování, selektivní izolaci analytů, předkoncentraci a v některých případech i konzervaci. Tímto zjednoduší různé kroky přímo na odběrovém místě. Svým provedením také snižují množství použití chemických rozpouštědel (Seethapathy et al., 2008). Pasivní vzorkovače bývají většinou malá zařízení, která nejsou náročná na zacházení a také nepotřebují žádný zdroj energie. Po odběru vzorkovačů z místa vzorkování obecně následují stejné kroky jako při jiných vzorkovacích metodách. Mezi další významné výhody patří možnost vzorkovat velké objemy vody. Pro tyto jejich vlastnosti jsou optimální pro monitoring látek a nachází uplatnění v různých studiích zaměřených například na sledování přítomnosti či absence látek v různých matricích životního prostředí, sledování časových trendů v obsahu vodních kontaminantů, mapování osudu polutantů a jejich osudu mezi matricemi, porovnání výskytu polutantů v biotě a vzorkovacích pro odhad expozice organismům či získání časově vážených průměrů koncentrací polutantů a mnohé další (Vrana et al., 2005).

I přes velké výhody pasivních vzorkovačů je třeba si uvědomit, že ve většině případů data koncentrací kontaminantů obsažené ve vodě, získané pomocí pasivních vzorkovačů, odráží pouze rozpuštěnou frakci a nemusí se nutně rovnat koncentraci zjištěné při bodových odběrech, zejména u velmi hydrofobních sloučenin v přítomnosti zvýšené hladiny rozpuštěných organických látek (Vrana et al., 2005). Další nevýhodou může být relativně nízká vzorkovací rychlost, kvůli které je potřeba vzorkování

po delší dobu. Tuto skutečnost však můžeme brát i jako výhodu, jelikož nám umožňuje zjistit časově vážený průměr koncentrací, který je důležitější než krátkodobé koncentrace, jelikož reflektují dlouhodobé chování látek (Namiešnik et al., 2005).

Faktory ovlivňující analytický výsledek z pasivního vzorkování jsou detekční limit a environmentální podmínky (například teplota). Detekční limit je dán funkcí vzorkovací rychlosti, vzorkovacího času, hodnotou koncentrací z neexponovaných vzorků, reprodukovatelnosti, senzitivitě použitého detektoru a selektivitě kolony (Namiešnik et al., 2005).

5.2 Druhy pasivních vzorkovačů

Jelikož se pasivní vzorkování stalo velmi osvědčenou metodou pro monitoring látek v životním prostředí, existuje v dnešní době již mnoho druhů pasivních vzorkovačů. Všechny jsou vyráběny tak, aby braly ohled na několik faktorů jako je například vzorkované médium, fyzikálně-chemické vlastnosti sledovaných analytů, forma, v jaké se analyt nachází (ionizované, neionizované, sorbované), doba vzorkování (osmihodinová pracovní expozice vs. týdny expozice při monitoringu v životním prostředí), variabilita environmentálních podmínek nebo cena a dostupnost (Seethapathy et al., 2008). I přesto se většina z nich shodují alespoň v některých aspektech, jako například přítomnost bariéry mezi vzorkovanou maticí a referenční fází. Tato bariéra hraje důležitou roli, jelikož ve většině případů rozhoduje o rychlosti, jakou jsou analyty akumulovány za dané koncentrace. Má také vliv na eliminaci nebo zmenšení efektu externích faktorů jako jsou velocita, teplota nebo vlhkost na vzorkovací rychlost. Díky této bariéře je také možné definovat selektivitu vzorkovače, čímž jej cíleně omezíme pro určité analyty (Górecki & Namienik, 2002).

Na základě vlastností bariéry rozdělujeme vzorkovače na dvě skupiny – na principu difúze nebo permeace, přičemž proces vzorkování je pro oba typy stejný. Když jsou vystaveny vzorkovanému médiu, shromažďují molekuly analytu, které se do sběrného média dostávají difúzí přes statickou vrstvu zkoumaného média, která je obsažena v přesně vymezených otvorech ve sběrném médiu, nebo permeací přes neporézní membránu. V obou případech je hnací silou transportu rozdíl chemických potenciálů na obou stranách bariéry. Tento rozdíl vzniká, když jsou molekuly analytu zachyceny na jedné straně bariéry, což má za následek vznik koncentračního nebo tlakového gradientu přes bariéru. Ideální sběrné médium má 100% účinnost, což znamená, že koncentrace analytů blízko povrchu média je nulová. Avšak v praxi se tato účinnost zřídka blíží ideálu (Górecki & Namienik, 2002).

Difúzní přenos látek skrze statickou vrstvu zkoumaného média a skrze membránu je popsán Fickovým 1. zákonem difúze:

$$M = U \times t = \frac{DA}{L} c_0 t \quad (9)$$

Kde množství analytu M (g) je transportováno difúzí za čas t (s), když je koncentrační gradient v lineární fázi a účinnost sběrného média je 100 %. U představuje rychlost difúzního transportu (g/s) a D je molekulární difúzní koeficient analytu (cm^2/s), A je plocha difúzní cesty (cm^2) a L je celková délka difúzní cesty (cm) a c_0 je hmotnostní koncentrace ve zkoumaném médiu (g/cm^3). Pro vzorkovače se známou geometrií a za konstantní teploty je vzorkovací rychlost rovna DA/L (cm^3/min). Tedy pokud známe hodnoty D z literatury, lze vypočítat koncentraci c_0 . Avšak tento přístup má několik nevýhod. Hodnoty difúzních koeficientů D se napříč literaturou liší a údaje o teplotní závislosti D jsou často odlišné. Mezi další faktory patří ztráta analytu sorpcí na různé části vzorkovače nebo účinnost sběru, která je nižší než 100 %. Proto se v praxi nejčastěji využívá kalibrace vzorkovače (Górecki & Namienik, 2002).

Rychlost příjmu látek do vzorkovače závisí na designu vzorkovače, fyzikálně-chemických vlastnostech analytů a na environmentálních faktorech, které byly zmíněny výše (Vrana et al., 2005). Pasivní vzorkovače, ať už difúzní či permeační, jsou obecně připravovány ve tvaru trubky (tubes) nebo box (badge). Tyto dva základní druhy dávají vznik několika dalším modifikacím, které jsou uplatňovány pro zlepšení efektivity, snížení senzitivity pro fluktuace a usnadnění desorpci analytů. Z hlediska vzorkování vody se používá typ „badge“, který je charakteristický kratší difúzní cestou a větší průřezovou plochou, rychlosti příjmu jsou většinou vyšší (Górecki & Namienik, 2002).

Obecně je důležité vzít v potaz celkový mechanismus výměny mezi vodnou fází a částmi vzorkovače. Pokud uvažujeme absenci biologického znečištění, primární vliv na příjem látek, respektive krok omezující rychlost příjmu látek do sběrného média je řízen membránou kontrolující difúzi nebo mezní vrstvou vody, která vzniká na rozhraní membrána-voda (Flynn & Yalkowsky, 1972). Tloušťku mezní vrstvy vody ovlivňují vodní turbulence, což má za zásadní vliv na přenos analytů (Booij et al., 2007).

Vrana et al. (2006) uvádí použití dvou typů membrán v pasivních vzorkovačích. Prvním typem jsou neporézní membrány, mezi které řadíme polyethylen s nízkou hustotou (LDPE, z angl. slova low density polyethylene), polypropylen a polyvinylchlorid, PDMS (polydimethylsiloxan), polyimid a jiné nepolární polymery. Druhým typem jsou mikroporézní membrány, kde příkladem může být regenerovaná celulóza, polyether-sulfon, polysulfon nebo polyakrylamidový hydrogel. V některých případech však slouží membrána přímo jako sběrné médium pro akumulaci analytů, hovoříme například o prouzcích z LDPE nebo silikonu či extrakce na pevné fázi (SPME, z angl. slova solid phase microextraction). V jiných případech má membrána sloužit pro snížení toku vody do sběrného média a oddělení sběrného média od vody. Takovými vzorkovači jsou například Chemcatcher, MESCO a SPMD. Tyto typy jsou více rozvedeny v dalších částech této kapitoly. Při výběru membrány hraje roli afinita, kterou sledované látky k membráně mají. Čím menší afinita, tím vzniká větší rezistence vůči transportu látek membránou, což má za následek snížení vzorkovací rychlosti (Vrana et al., 2006). Mimo to má výběr membrány vliv i na citlivost vzorkovače na tok vody. Pokud je rezistence daná membránou nižší, rychlost je více kontrolována mezní vrstvou vody, která je obecně závislá na hydrodynamických podmínkách na rozhraní voda-membrána.

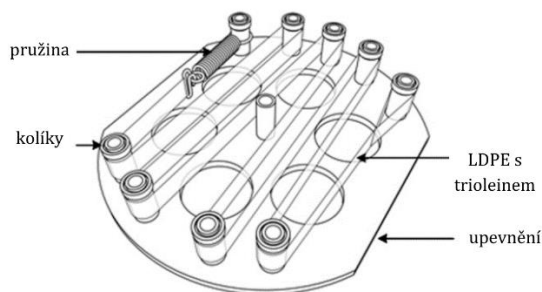
Proto pokud se snažíme snížit vliv rychlosti toku přidáním membrány, která má nižší rozdělovací koeficienty membrána–voda pro sledované analyty, automaticky snižujeme i rychlost vzorkování. Naopak membrány s vysokými rozdělovacími koeficienty zvyšují vzorkovací rychlost, ale také zvyšují citlivost vzorkovačů na změny v toku (Vrana et al., 2005).

Zatímco fyzické umístění pasivních vzorkovačů nebývá složité, je zde několik kroků, které předcházejí a které vyžadují pečlivé zvážení. Ať už se jedná o strategii odběru vzorků, určení jejich počtu a typu, jejich přesné umístění, čas a trvání expozice nebo také nároky na zpracování vzorků v laboratoři. Dále znalosti o zdrojích znečištění, potenciální osud látek a dostupné analytické metody mají vliv na plnohodnotnou interpretaci dat (Seethapathy et al., 2008).

V následujících podkapitolách jsou představeny nejpoužívanější typy pasivních vzorkovačů ve vodě.

5.2.1 Vzorkovače na bázi semipermeabilní membrány

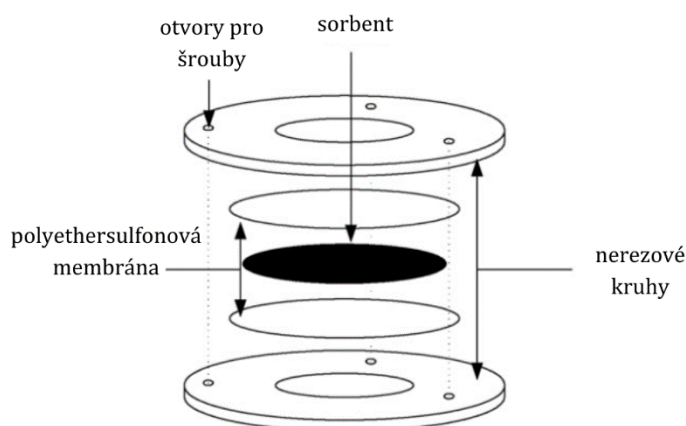
Vzorkovače se semipermeabilní membránou (SPMDs, z angl. slova semipermeable membrane devices) byly poprvé představeny ve studii Huckins et al. (1990) a od té doby patří mezi široce využívané vzorkovače pro sledování a měření hydrofobních kontaminantů ve vodě. Tento typ vzorkovače se skládá z LDPE trubičky (běžná tloušťka filmu v rozmezí 50 μm a 100 μm), která je naplněná vysoce čistým trioleinem a uzavřená na obou koncích (Obrázek 7). Díky tomu, že je membrána i sběrné médium hydrofobní, lze tento vzorkovač použít pouze pro hydrofobní látky (obvykle $\log K_{ow} > 3$). Tato základní struktura může být dále upravena přidáním dalších částí, které zvyšují ochranu vzorkovače před nadměrným prouděním vody či různým znečištěním. Po ukončení vzorkování obvykle následuje dialýza s použitím rozpouštědel a analytická kvantifikace nebo extrakce LDPE (z angl. slova low density polyethylene) membrány i trioleinu rozpouštědlem. Tento typ je vhodný pro široké spektrum látek jako jsou například polychlorované bifenoly (PCBs), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs), organochlorové pesticidy či dioxiny a furany.



Obrázek 7: Stavba SPMD vzorkovače (Seethapathy et al., 2008)

5.2.2 Integrativní vzorkovače pro polární organické látky (POCIS)

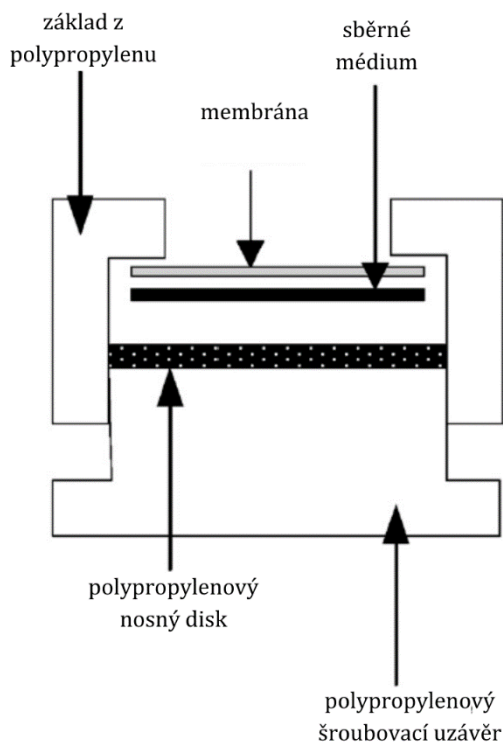
POCIS (z angl. slova polar organic chemical integrative samples) byl navržen tak, aby doplňoval použití SPMD, tedy je vhodný pro látky s $\log K_{ow} < 3$, které označujeme jako hydrofilní. Běžná struktura vzorkovače se skládá ze sorbentu, který je stlačen mezi dvěma mikroporézními polyethersulfonovými membránami a upevněn dvěma nerezovými kroužky (Obrázek 8). Vzorkovač je možné dále modifikovat použitím více sorbentů podle typu látek, které sledujeme. Použitím tohoto vzorkovače lze monitorovat pesticidy, farmaceutika, ale i produkty osobní péče (Seethapathy et al., 2008). Získané koncentrace látek reflektují biodostupnou složku, jelikož POCIS vzorkuje rozpuštěné látky ve vodě (Vrana et al., 2005). Alvarez (2010) ve své studii popisuje dva typy POCIS vzorkovačů dle toho, pro jaké látky jsou vhodné. Jedná se o POCIS pro pesticidy a POCIS pro farmaceutika. Odlišují se jiným sorbentem – tedy fází, do které se akumulují analyty. POCIS pro pesticidy obsahuje trojfázovou směs Isolute® ENV a Amborsorb® 1500 nebo 572 uhlíku rozptýleného na S-X3 BioBeads®. POCIS s tímto typem sorbentu byl připraven pro vzorkování pesticidů a hormonů, avšak s přibývajícím seznamem chemických látek, pro které měl být tento vzorkovač vhodný, se ukázalo, že je obtížné získat různé typy látek ze sorbentu. Jednalo se například o farmaceutika s různými funkčními skupinami. Z tohoto důvodu byl vytvořen druhý typ, který obsahuje sorbent Oasis HLB. Tento sorbent je považován za univerzální sorbent pro celou řadu chemických látek a je hojně využíván při environmentálních analýzách (Alvarez, 2010). Avšak v novější literatuře už lze dohledat mnoho modifikací tohoto vzorkovače. Jedním z omezení bylo, že není příliš vhodný pro silně hydrofilní látky a iontové organické látky ve vodě. Vědci tak stále hledají a inovují dosavadní vzorkovače, aby našli efektivnější, ekonomičtější a spolehlivější řešení pro monitorování látek. V posledních letech vzniklo mnoho různých typů vzorkovačů typu POCIS. Velmi dobrý přehled poskytuje Godlewska et al. (2021), kde autoři sumarizují vzorkovače na bázi POCIS v letech od 2004, tedy z doby, kdy byl tento vzorkovač navrhnout, až do 2020.



Obrázek 8: Stavba POCIS vzorkovače (Seethapathy et al., 2008)

5.2.3 Chemcatcher

Tento vzorkovač využívá difúzi-limitující membránu a sběrné médium ve formě pevné fáze. Obě tyto části jsou upevněny inertním plastovým krytem (většinou polytetrafluoroethylen (PTFE) nebo polykarbonát (Obrázek 9). Chemcatcher lze použít jak pro polární, tak i pro nepochární látky. Oba dva typy používají jako sběrné médium C18 Empore disk a liší se v provedení membrány. Je využíván zejména pro vzorkování alkylfenolů, zhášeců hoření, steroidů nebo farmaceutik (Vrana et al., 2005). Může být použit jak pro vzorkování kinetické, tak rovnovážné. V novějších experimentech je používán jako sběrné médium i styrendivinilbenzen (SDB). Dostupné jsou tři různá provedení, která se liší hloubkou dutiny, ve které je umístěno sběrné médium, což má vliv na vzorkovací rychlost. Čím menší je hloubka, tím je vzorkovací rychlost větší, ale za to je tento design více náchylný ke změnám rychlosti proudění a turbulenci (Charriau et al., 2016).

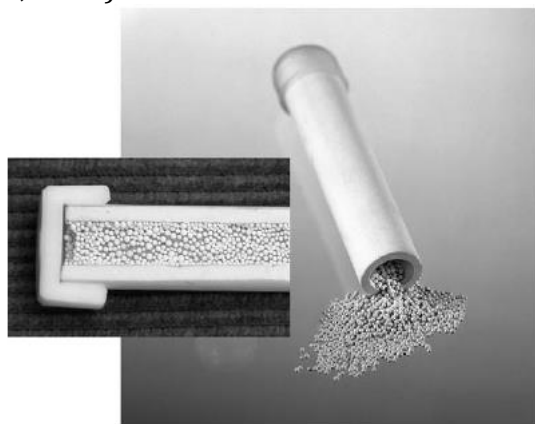


Obrázek 9: Stavba Chemcatcheru (Seethapathy et al., 2008; Zaixing, 2006)

5.2.4 Keramický dozimetr

Keramický dozimetr sestává z keramické trubičky, která slouží jako difúzi-limitující bariéra uzavírá sběrné médium obsahující pevné sorpční kuličky (Obrázek 10). Keramickou bariéru lze upravit, aby měla jinou velikost. Adsorbent je volen dle sledovaných

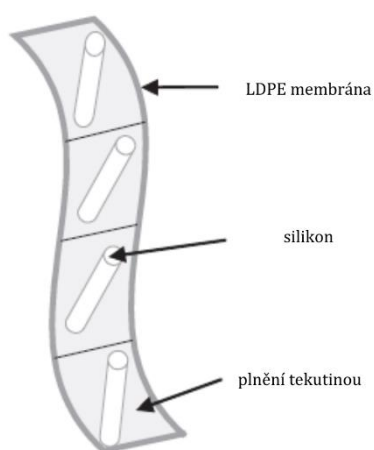
látek, například s použitím Dowex Optipore L-493 lze vzorkovat benzen, toluen, xylen nebo naftalen (Vrana et al., 2005).



Obrázek 10: Keramický dozimetr se sorpčními kuličkami (Booij et al., 2007)

5.2.5 MESCO

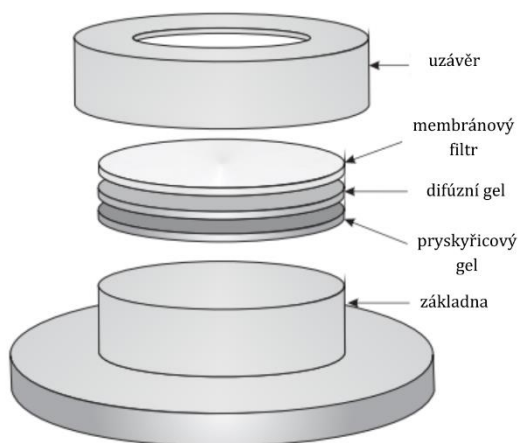
Vzorkovač MESCO (z angl. slova membrane enclosed sorptive coating) je sestaven z tyče obalenou polydimethylsiloxanem (PDMS) nebo hrubým silikonovým materiálem (zapuštěným v kapalině), které slouží jako sběrné médium pro analyty (Obrázek 11). Tato fáze je uzavřena v dialyzační membráně. Tyto vzorkovače jsou výhodné zejména díky jednoduché aplikaci a bezztrátové separaci sběrné fáze, zjednodušené a bezztrátové zpracování v laboratoři bez dalších kroků čištění přímou termickou desorpce nebo mikroextrakcí rozpouštědlem, možnost obohatit sběrné médium referenčními sloučeninami (PRC) před expozicí a je vhodný i pro použití při sledování biologických účinků (Vrana et al., 2001).



Obrázek 11: Stavba vzorkovače MESCO (Booij et al., 2007; Paschke et al., 2006)

5.2.6 DGT a o-DGT

Vzorkovač na bázi difúzních gradientů v tenkých vrstvách neboli se zkráceným názvem DGT (z angl. slova *diffusive gradients in thin films*) byl vyroben jako monitorovací nástroj pro sledování stopových koncentrací těžkých kovů. Princip DGT spočívá v kvantitativním difúzním transportu rozpuštěných látek přes jasně definovaný koncentrační gradient, kterým je obvykle vrstva hydrogelu a vnější filtrační membrána. Tato membrána je přímo vystavena sledované matici a má za úkol chránit vrstvu difúzního gelu. Poté, co se sledované látky dostanou přes tyto části, jsou nevratně odstraněny nebo chelatovány na zadní straně difúzního gelu selektivním vazebným činidlem, které je zakomponováno ve druhé vrstvě hydrogelu (Obrázek 12). Typickým činidlem je Chelex 100. Jako hydrogel se běžně používá polyakrylamid, který lze připravit s různými výslednými vlastnostmi. Lze docílit i téměř neomezené difúze díky obsahu vody v gelu až 95 %. Všechny tyto části jsou sestaveny dohromady a uloženy v celoplastovém zařízení s víčkem. Víčko má přesné rozměry tak, aby se docílilo vodotěsnosti, ale zároveň je zde otvor, který umožňuje expozici definované plochy filtru (Zhang & Davison, 1999).



Obrázek 12: Stavba DGT vzorkovače (Averós et al., 2020)

Později byl tento vzorkovač upraven, aby bylo možné jej použít i pro organické látky jako jsou různé druhy léků či pesticidů. Tento vzorkovač je známý pod zkratkou o-DGT. Pro omezení vlivu biofoulingu se na vzorkovač přidává polyethensulfonová membrána, která je odolná vůči aktivitě mikroorganismů a chrání hydrogelovou vrstvu (Chen et al., 2012). Avšak Vermeissen et al. (2012) poukazují na to, že tato membrána může být pro některé typy látek lepším sběrným médiem než použitý sorbent, což má za následek retenci látek právě v této membráně.

5.3 Charakteristika vzorkovačů použitých v experimentu

Pro účely experimentu byly vybrány celkem tři typy vzorkovačů, a to na bázi sorbentu – speedisk a dva vzorkovače s Affinisep diskem, přičemž jeden je opatřen hydrogelovou vrstvou a druhý nikoliv (Tabulka 3). Tento typ vychází z předpokladu, že hydrogelová vrstva snižuje vliv hydrodynamiky na příjem látek vzorkovačem. Design je převzat z modelu DGT vzorkovače doplněného o vhodný sorbent pro aromatické aminy, který je více popsán v následujících kapitolách. Zároveň je také brán v potaz design vzorkovače navrhnutý v práci Urík & Vrana (2019), kde navrhuje použití oboustranného vzorkovače pro zvětšení vzorkovací plochy, a tedy i vzorkovací rychlosti. Vzorkovač typu speedisk byl zvolen pro jeho robustnost, odolnost a snížené riziko kontaminace díky jeho již sestavené konstrukci.

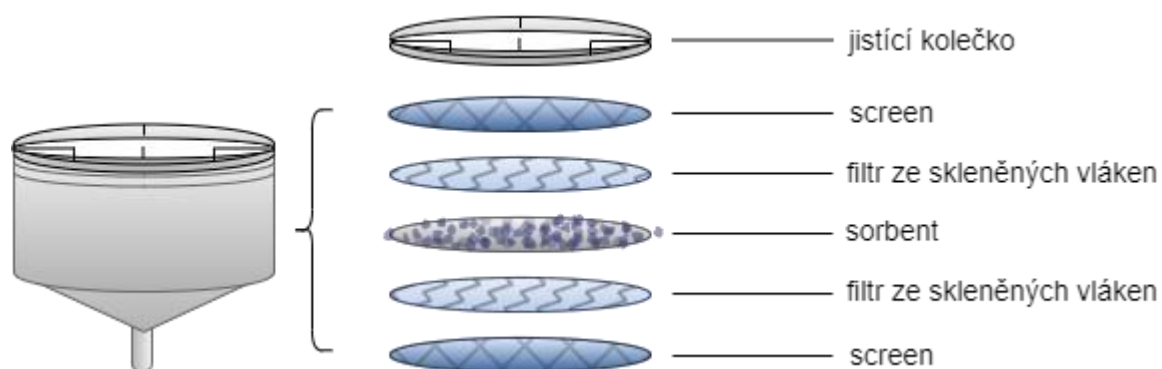
Tabulka 3: Seznam vzorkovačů a jejich charakteristika

Typ vzorkovače	speedisk	Affinisep disk + hydrogel	Affinisep disk
Zkratka	speedisk	HPS	AD
Difúzní vrstva	-	0,1 cm 1,5% hydrogel + 170 µm nylonová síťka	-
Typ sorbentu	H ₂ O Philic divinylbenzen (DVB)	Polystyren-divinylbenzen sulfonát s reverzní fází (SDB-RPS)	Polystyren-divinylbenzen sulfonát s reverzní fází (SDB-RPS)
Hmotnost sorbentu	~600 mg	~300 mg	~300 mg
Filtr	Filtr ze skleněných vláken	AttractSPE® ze skleněných vláken	AttractSPE® ze skleněných vláken
Vzorkovací plocha	19,6 cm ²	11,3 cm ²	11,3 cm ²

5.3.1 Speedisk Bakerbond

Technologie speedisku je založená na extrakci na pevné fázi (SPE, solid phase extraction), která spočívá v tom, že se látky zachycují na pevné fázi a následně se z ní extrahují. Prodává se pod výrobním jménem J.T.Baker®BAKERBOND Speedisk™ již

zhotovený se všemi částmi a tento design je také patentován. Jeho laminární provedení maximalizuje přístup molekul analytu k mikročásticovému sorbentu. Mezi jeho další výhody patří odolnost proti ucpání a zároveň vysoká propustnost, čímž je ideální k použití pro analýzu jak čirých vzorků, tak vzorků s velkým množstvím částic. Díky tomu, že je speedisk již sestaven, limituje se riziko kontaminace, jelikož ruce nikdy nepřijdou do kontaktu se sorpčním diskem. Polyesterový obal poskytuje bariéru, která odpuzuje vlhkost a eliminuje riziko kontaminace plastovými aditivami (například ftaláty). Speedisky jsou na bázi silikonu a polymeru. Jsou dostupné ve velikosti 50 mm a jsou vhodné pro vzorky od 200 ml do 2 l (Avantor, 2017). Uvnitř najdeme celkem 5 částí, které zajišťují vysokou preciznost, kapacitu a výtěžnost (Obrázek 13).



Obrázek 13: Struktura speedisku – jeho jednotlivé části obsažené uvnitř vzorkovače

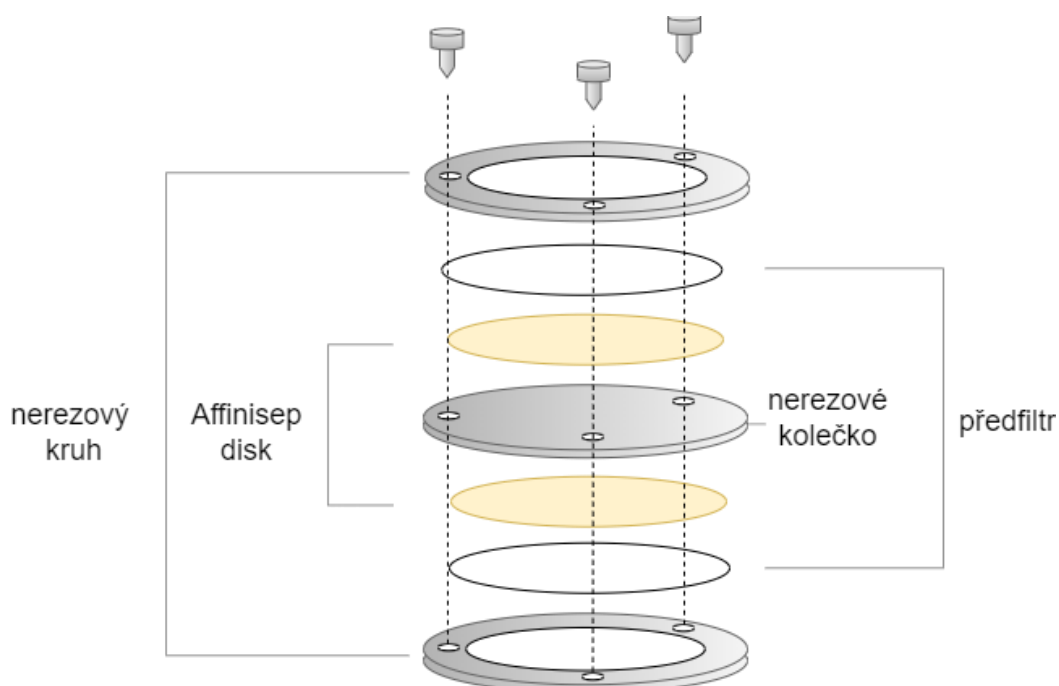
Může být použit pro stanovení celé řady chemických látek, zejména ve vodních vzorcích, s různými vlastnostmi, dle kterých se liší sorbent umístěný uvnitř (Tabulka 4). Pro stanovení aromatických aminů v této práci byl použit sorbent H₂O Philic DVB s výrobním číslem 8072-06, který obsahuje sorbent obohacený o styren-divinilbenzen (Avantor, 2017).

Tabulka 4: Přehled druhů sorbentů a cílové analyty

Typ sorbentu	Stanovované látky
C18 (octadecyl)	Slabě polární až nepolární, průmyslové vzorky
C18 polar plus	Slabě až středně polární (fenoly, sulfonyleura)
H ₂ O Phobic DVB	Slabě polární až nepolární, chlorované kyseliny
H ₂ O Philic DVB	Hydrofobní a lehce hydrofilní
SAX (silný výměník aniontů)	Haloctové kyseliny

5.3.2 Affinisep disk

Tento typ vzorkovače je, stejně jako vzorkovač speedisk, založen na principu SPE. Jedná se o disk s výrobním jménem AttractSPE®disk, který i přes jeho tenkost je velmi odolný a vykazuje dobrou retenci během analýzy vzorku. Je v souladu s předpisy metod EPA (z angl. slova Environmental protection agency). Tyto disky jsou vyráběny pro dvě využití – v analýze životního prostředí, které využíváme v tomto experimentu, a pro biomolekulární analýzy. Díky rychlému průtoku a velké výměnné ploše jsou schopny vzorkovat velké množství vody. Další výhodou je vysoká kapacita, kratší doba extrakce a vysoká výtěžnost (> 90 %). Tyto disky jsou také skvělým komponentem do vzorkovačů typů Chemcatcher, kde slouží jako záchytná membrána, což je dáno jejich dobrou retencí a snadným používáním. Jsou dostupné s mnoha typy sorbentů, například C18, SDB, HLB nebo RPS ve dvou velikostech 47 mm nebo 90 mm v průměru. Použití je vhodné jak pro čisté vody, tak pro vody s vysokým obsahem nečistot. Lze je použít pro analýzu široké škály environmentálních polutantů, jako jsou pesticidy, léčiva či polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs, z angl. slova polycyklické aromatické uhlovodíky). Pro zlepšení použití je vhodné tento disk doplnit o předfiltr, v našem případě se jedná o AttractSPE®prefiltr, který zabraňuje ucpání v případě použití pro vzorky s velkým obsahem nečistot (Affinisep, 2023). Tento předfiltr je použit i v našem návrhu na vzorkovač, jelikož jej používáme pro vzorkování v terénu, kde přijde do kontaktu s velkým množstvím znečištění. Affinisep disk je umístěn na nerezovém kolečku, které je opatřeno pěti dírami pro umístění šroubků. Na disku je položen předfiltr a tyto dvě části jsou přiklopeny nerezovým kroužkem, kde je také pět otvorů pro upevnění. Tento systém je oboustranný, tedy z obou stran nerezového kolečka jsou Affinisep disky, filtr a nerezový kruh (Obrázek 14).

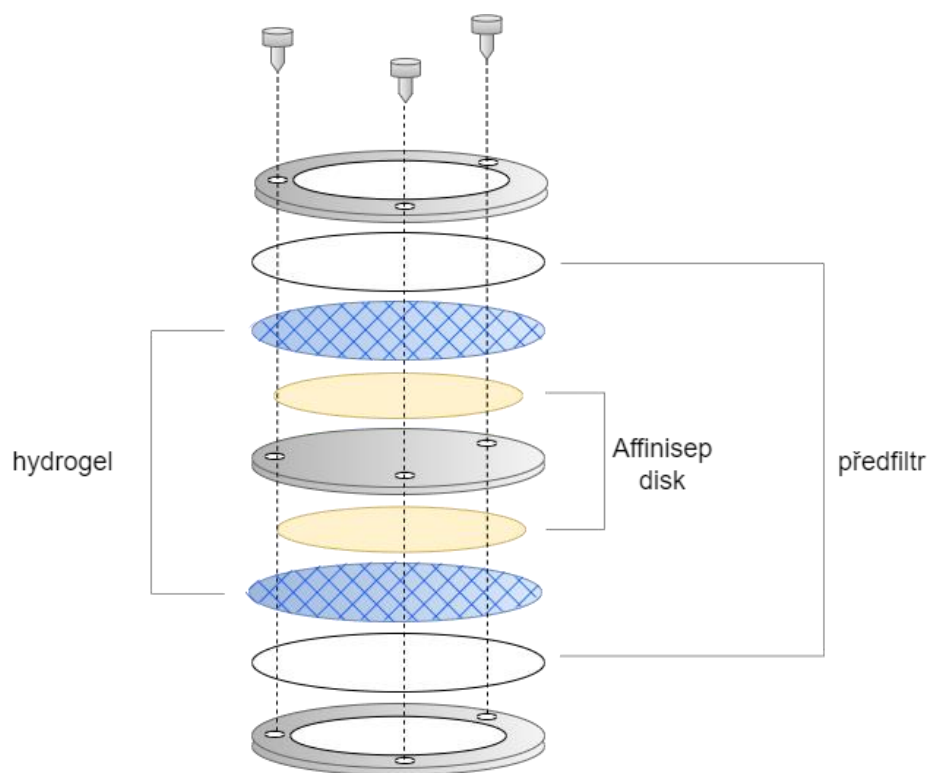


Obrázek 14: Sestavení Affinisep vzorkovače bez hydrogelu

Modifikací tohoto vzorkovače byl vytvořen třetí typ, a to takový, který obsahuje další vrstvu. Jak již bylo zmíněno výše, příjem látek do vzorkovače je ovlivňován několika faktory. Asi největší vliv má hydrodynamika, díky tomu, že přenos látek je zde vystaven odporu v mezní vrstvě vody. V případě POCIS vzorkovače či Chemcatcheru je využita membrána z mikroporézního polyethersulfonu (PES, z angl. slova polyethersulfone), avšak je zde stále pozorován vliv mezní vrstvy vody. Jako další možností může být silnější trubička z mikroporézního polyethylenu či difúzní hydrogelová vrstva (Harman et al., 2012). Efekt hydrodynamiky v tomto experimentu zmenšujeme použitím difúze-limitující membrány v podobě hydrogelové vrstvy. Tento typ byl představen v práci Urík & Vrana (2019), jak již bylo zmíněno dříve. Jedná se o 1,5% agarózový hydrogel o tloušťce 0,1 cm, který je dále doplněn o nylonovou síťku, jelikož samotný hydrogel se ukázal jako nepříliš odolný. Při přípravě se tedy hydrogel zalévá do síťky, aby se s ním lépe zacházelo a měl větší robustnost. Hydrogelová vrstva je vložena mezi filtr a Affinisep disk (Obrázek 15). Její průměr je 5,5 cm a díky oboustrannému designu činí vzorkovací povrch 22,7 cm². Avšak v případě této práce je vzorkovací plocha poloviční, tedy 11,3 cm², jelikož se jednotlivé disky z jednoho vzorkovače extrahují zvlášť. Stejně jako v předchozím případě je celý vzorkovač upevněn nerezovými kruhy a přišroubován dohromady. Detailnější popis přípravy je uveden v praktické části této práce.

Urík & Vrana (2019) ve svém experimentu ochranou membránu, která by byla položena na hydrogel, nepoužili, ale upozornili na fakt, že může být pozorována rychlejší degradace hydrogelové vrstvy, a proto doporučují snížit expoziční dobu. Tento jev se projevil při jejich terénním pozorování, kdy po čtyřtýdenní expozici sledovali

zmenšení tloušťky hydrogelu. V našem případě je tento problém vyřešen přidáním křemenného filtru, kde nepředpokládáme významnou akumulaci sledovaných látek.



Obrázek 15: Sestavení hydrogelového vzorkovače

5.4 Kalibrace vzorkovačů

Pro stanovení látkově-specifických konstant k_1 a k_2 a distribučního koeficientu K je možné použít dva způsoby. Za užití teoretického způsobu lze tyto parametry charakterizovat pomocí semi-empirických korelací mezi koeficienty přenosu hmoty, fyzikálně-chemickými vlastnostmi a hydrodynamickými parametry. Avšak tento způsob není optimální s ohledem na komplexitu vodního proudění kolem vzorkovačů během expozice a je často obtížné odhadnout parametry příjmu z kinetiky prvního řádu. Druhou možností je využití kalibrace pasivních vzorkovačů, která probíhá za laboratorních podmínek a se známými koncentracemi (Namiesnik 2005).

Kalibrace spojuje informace o množství akumulované látky s její koncentrací ve sledované matici zjištěním její vzorkovací rychlosti R_s . Pro zjištění hodnot R_s pasivní vzorkovače musí být kalibrovány za laboratorních podmínek nebo *in situ* (Vrana et al., 2006). V literatuře pro laboratorní provedení jsou uvedeny celkem tři postupy. Prvním je statická kalibrace, která je provedená v uzavřeném systému, kde jsou analyty přidány na začátku experimentu. Tento typ je vhodný, pokud testované látky nepodléhají degradaci anebo kalibrace trvá pár dní. Druhým typem je obnovující se statická kalibrace, která je také provedena v uzavřeném systému, avšak analyty jsou doplňovány v konstantních intervalech. S tímto typem se můžeme setkat nejvíce, díky jeho snadnému provedení. Je používán například v případech, kdy statická expozice by vedla k velkému úbytku vody nebo když je problémové docílit stabilních koncentrací analytů ve vodě v případě průtočného nastavení. Posledním typem je průtočná kalibrace provedená v otevřeném systému s kontinuálním přísunem kontaminované vody, avšak je mnohem více náročná (Godlewska et al., 2021; Greenwood et al., 2007).

Aby se lépe reflektovaly environmentální podmínky během statické kalibrace, je vhodné použít nějaké zařízení, které bude zajišťovat promíchávání vody. Nejčastěji se jedná o druh magnetického míchadla. Takto upravené kalibraci říkáme semi-statická (nebo quasi-statická) (Godlewska et al., 2021).

Druhým typem kalibrace je *in situ*, která se provádí přímo na místě. Důležité jsou vysoké hodnoty R_s , jelikož se organické polutanty vyskytují v životním prostředí v nízkých koncentracích. Vzorkovací rychlost lze zvýšit úpravou designu vzorkovače, jak již bylo zmíněno výše. Je důležité znát, jaká část limituje příjem testovaných analytů. Zpravidla se jedná o čtyři části, a to sběrné médium, membránu, biotickou kontaminaci membrány a mezní vrstvu vody, jak již bylo zmíněno výše. Hodnoty R_s mohou být také ovlivňovány environmentálními podmínkami jako je salinita vody, pH donoru, teplota nebo koncentrace rozpuštěných organických látek. Z tohoto důvodu se doporučuje používat referenční sloučeniny (PRC). Zpravidla to bývají izotopicky značené sloučeniny, které se nevyskytují v přírodě (Godlewska et al., 2021). Jsou přidány do vzorkovaného média spolu se vzorkovači a během expozice jsou uvolňovány do vody. Příjem analytů do vzorkovače a uvolňování referenčních látek probíhá stejným molekulárním mechanismem. Pokud tedy při expozici dochází k vlivu změn v environmentálních

podmínkách, tyto stejné změny by měly být reflektovány v uvolňování referenčních látek ze vzorkovače (Harman et al., 2012).

Hodnoty R_s jsou také závislé na fyzikálně-chemických vlastnostech zkoumaných analytů (rozpustnost, hydrofobicita, molekulární hmotnost). Při různých hodnotách pH může docházet k ionizaci funkčních skupin u celé řady chemických látek. Hodnota pH má navíc i vliv na hydrofobicitu nebo rozpustnost sledovaných analytů. Rozpuštěné organické látky se mohou vázat na zkoumané analyty nebo zabírat adsorpční místa a inhibovat tak adsorpci látek, které sledujeme. Kromě zde zmíněných faktorů hraje roli i tok vody, kde se ukazuje, že při kinetickém vzorkování, je zde korelace mezi tloušťkou mezní vrstvy vody a rychlosti toku vody. Proto zvýšením rychlosti toku vody se snižuje tloušťka mezní vrstvy vody, která ovlivňuje vzorkovací rychlosti analytů ve vzorkovači (Godlewska et al., 2021). Dalším faktorem je teplota, kde se předpokládá, že se zvyšující se teplotou roste mobilita analytů a zvyšuje se přenos látek do sběrného média vzorkovače. Se vzrůstající teplotou také roste chemický potenciál, který má vliv na vstup látek membránou (Djomte et al., 2018).

6 Čistírny odpadních vod

Odtoky z čistíren odpadních vod i po přečištění obsahují různé koncentrace kontaminantů. Tyto výpustě jsou tedy jedním ze zdrojů chemických látek v životním prostředí (Bueno et al., 2012). V okolí čistíren tak mohou mít subletální až letální účinky na vodní organismy. Příkladem těchto kontaminantů jsou aromatické aminy, u kterých je jedním z pozorovaných subletálních účinků mutagenita (Ellis et al., 1982). Mimo mutagenní účinky byla například u 3,4-dichloranilinu pozorována i endokrinní disrupce (Tasca & Fletcher, 2018).

Doposud bylo zkoumáno několik způsobů, jak odstranit aromatické aminy z odpadních vod. Jmenovitě například biologické, chemické, fyzikální, fotokatalytické či pokročilé oxidační procesy. Konvenční procesy jako extrakce, adsorpce na aktivní uhlí, zmíněná chemická oxidace, elektrochemické techniky či ozařování jsou ne příliš vhodné v důsledku vzniku nebezpečných vedlejších produktů spolu s nízkou účinností (Franciscon et al., 2010). Chemická oxidace ANI a substituovaných aromatických aminů vede ke vzniku různých produktů. Konečné produkty jsou však závislé na reakčních podmínkách a typu oxidačního činidla. Nejčastěji je používán chlor, chroman a manganistan (Casero et al., 1997). Pokud se podíváme na fyzikální procesy, adsorpce se zdá být nejúčinnější. Jako adsorbenty se používá aktivní uhlí, popílek, aktivovaný oxid hlinitý, zeolit a další. Adsorpční procesy jsou však víceméně přesuny z jedné fáze na druhou a problém nastává při regeneraci sorbentu, kdy je obtížné aromatické aminy správně zlikvidovat. Pokročilé oxidační procesy představují slibnou metodu odstraňování několika organických kontaminantů, jak z vody, tak z půdy. Tyto metody jsou založeny na principu vzniku velmi silného oxidačního činidla, což může být například hydroxylový radikál (Oturán & Brillas, 2007). Součástí je fotokatalytický systém, který je obvykle kombinací TiO_2 , ZnO , WO_3 , SnO_2 a UV. Na oxidaci aromatických aminů bylo použito i Fentonovo činidlo – směs peroxidu vodíku a Fe^{2+} , která produkuje také hydroxylový radikál. Tato směs je účinná pro celou řadu sloučenin, jako jsou alkoholy, ethery, chlorované fenoly nebo pesticidy (Casero et al., 1997). Výhodou tohoto činidla je úplná mineralizace organických sloučenin vedoucí ke vzniku neškodných produktů jako jsou voda a oxid uhličitý (Narayana & Sunil, 2009). Naopak nevýhodou je vznik nežádoucích látek jako jsou kaly s obsahem hydroxidu železitého, jehož odstranění si žádá doplňující separační procesy (Pereira et al., 2015).

Jako nejslibnější se zdají biologické procesy, které využívají přirozených procesů probíhajících v životním prostředí. Navíc z hlediska ekonomiky jsou výhodné, energeticky účinné a ekologicky proveditelné. Zde rozdělujeme dva hlavní přístupy pro degradaci aromatických sloučenin, které se odlišují přítomností kyslíku, respektive jeho nepřítomností. Při aerobním katabolismu aromatických látek je kyslík konečným akceptorem elektronů, ale také jedním ze substrátů během dvou klíčových procesů – hydroxylace a oxygenolytické štěpení aromatického kruhu, které provádějí oxygenázy

(Parales & Resnick, 2006). Naopak při anaerobním katabolismu je využita odlišná strategie založená na redukčních reakcích, které působí na aromatický kruh (Pinheiro et al., 2004). I přes to, že je aerobní katabolismus používán pro aromatické sloučeniny, nemusí fungovat pro všechny aromatické aminy. Bylo vyzkoumáno, že ty, které jsou substituované hydroxylovou nebo karboxylovou skupinou, jsou degradovány za metanogenních a sulfát redukujících podmínek (Kalyuzhnyi et al., 2000) a zdá se, že nejobtížněji rozložitelné jsou zejména sulfonované aromatické aminy (Razo-Flores et al., 1996). Aerobní biodegradace však má tu nevýhodu, že aromatické aminy se po vystavení kyslíku místo rozkladu samovolně oxidují. Díky tomu většinou vznikají větší molekuly a jejich biodegradabilita tak klesá. Jako alternativu za kyslík může posloužit dusičnan. Zároveň mohou vznikat vyšší náklady v důsledku vyšší spotřeby energie na provzdušňování (Pereira et al., 2011). V případě anaerobní degradace je stále potřeba více zkoumání a pochopení, i přesto, že tento způsob převažuje v mnoha místech jako jsou vodonosné vrstvy, vodní sedimenty a zatopené půdy nebo kalové vyhnívací nádrže, kde je kyslík mnohem rychleji konzumován než vyráběn. Což znamená, že na mnoha přírodních stanovištích převládají anoxické podmínky a anaerobní katabolismus mikroorganismů se tak stává klíčovým pro biogeochemické cykly (Pereira et al., 2015).

Terénní experiment praktické části byl proveden na čistírně odpadních vod v Modřicích. Tato čistírna přečišťuje vodu nejen z města Brna, ale také z přilehlých obcí a měst. Skládá se z mechanické i biologické části a součástí je i kalové a energetické hospodářství. Ročně projde touto čistírnou odpadních vod zhruba 35 milionů kubíků odpadní vody. Čistírna v Modřicích od svého působení od roku 1961 prošla rekonstrukcí, rozšířením a optimalizací. Díky tomu je v současné době kapacita čistírny 640 000 ekvivalentních obyvatel. Na vstupu do ČOV je umístěna stavidlová komora, která umožňuje odvádět část odpadních vod do dešťové nádrže a po naplnění této nádrže a dosažení maximálního povoleného průtoku ČOV dochází k přepadu odpadních vod do řeky Svatky. Odpadní vody jsou přiváděny třemi kmenovými stokami. Ty se spojují ve vstupní nátokové komoře a odpadní voda je dále vedena skrze čtyři lapáky šterku a následně přes strojně stírané česle. Dále voda odtéká do šesti drah provzdušňovacích lapáků písku, kde je díky flotaci zachycován tuk. Písek je těžen čerpadly a předán do třídiček, zatímco tuk se jímá v separačním zařízení. Za těmito částmi je zabudován měrný profil přítoku na ČOV a automatický vzorkovač. Takto přečištěná voda je čerpací stanicí dopravena na mechanické čištění skládající se ze čtyř šnekových čerpadel a čtyř kruhových usazovacích nádrží o průměru 36 metrů a obtokovým kanálem pro tyto nádrže, který je v provozu pouze za dešťových událostí. Kal z těchto nádrží, tedy primární kal, je odčerpáván na gravitační zahuštění (BVK, 2024).

Následuje biologické čištění, které sestává z nitrifikace s předřazenou denitrifikací a s chemickým srážením fosforu. Biologickou linku tvoří čtyři samostatné dráhy. Aktivační směs z dvojice nádrží je vedena přes odplyňovací nádrž do rozdělovacího objektu, kde dochází k separaci aktivovaného kalu do trojice dosazovacích nádrží.

Odplyňovací nádrže mají za úkol eliminovat vzduchové bubliny, které vznikají v důsledku přirozené flotace v přítoku z aeračních nádrží. Celkem jsou zde čtyři aktivační systémy s aerací jemnými bublinkami, které jsou vytvářeny pomocí vzduchu z dmýcháren. Díky aeraci je eliminováno organické znečištění, fosfor a dusík. Z těchto aktivačních nádrží je aktivační směs vedena do dosazovacích nádrží. Zde dochází k usazování a oddělování nerozpuštěných látek (aktivovaný kal) od biologicky vyčištěné odpadní vody a k recirkulaci aktivovaného kalu do aktivačních nádrží, aby byla dosažena potřebná koncentrace aktivní biomasy. V aktivačním procesu se totiž mikroorganismy neustále množí, a je tak potřeba přebytečnou biomasu (přebytečný sekundární kal) odvádět pryč. Tento přebytečný kal je zpracováván pomocí strojního zahuštění. Aby došlo k odstranění fosforu, je aktivace opatřena dávkovacími stanicemi pro srážení železitou a/nebo hlinitou solí. Z dosazovacích nádrží je vyčištěná voda hnána přes odtokový objekt, který je opatřen čerpací stanicí biologicky vyčištěné vody, měřičem průtoku a vzorkovacím automatem a navazuje na výpusť do řeky Svratky. Kalovou linku pro zpracování kalu tvoří gravitační zahušťovací nádrže pro primární kal, zahušťovací odstředivka pro přebytečný sekundární kal, homogenizační nádrže, vyhnívací nádrže, uskladňovací nádrže vyhnílého kalu, zařízení na odvodňování kalu a sušárny kalu. Vyhnílý kal prochází procesem odvodňování v odstředivkách a poté je šnekovým dopravníkem přemístěn do kontejnerů a následně určen pro kompostování nebo je čerpán do sušárny kalu. V prvním případě je kal hygienizován přidáním oxidu vápenatého a ve druhém případě dochází k hygienizaci a pasterizaci s dlouhou dobou zadržení kalu v kombinaci s teplotním spádem. Výsledný kal ze sušárny má sušinu 92%. Kalový plyn vznikající během procesu anaerobního vyhnívání kalu je odváděn z vyhnívacích nádrží do plynojemů, odsířen v odsiřovací jednotce a následně doplněn do plynových motorů, zajišťující chod generátorů vyrábějící proud (BVK, 2024).

7 Praktická část

7.1 Použitý materiál, vybavení, chemikálie

7.1.1 Použité chemikálie

- Dichlormetan (99,8+%, J.T.Baker, Avantor, USA)
- Methanol (LC-MS, Biosolve, Francie)
- Acetonitril (99,95%, Biosolve, Nizozemsko)
- Agaróza (pevnost gelu 3200 g cm⁻² a bod přechodu 36,0 °C ± 1,5 °C, Sigma-Aldrich, Německo)
- Amoniak (24,0 – 28,0%, Mikrochem, Slovensko)
- Vysoce čistá filtrovaná voda (MilliQ, Sartorius), dále jen milliQ
- 2-propanol (LC-MS, Lichrosolv, Německo)
- Aceton (Pesticide Residue Grade, Fisher chemicals, Finsko)
- Destilovaná voda (AquaOsmotic typ 05, Česká republika)
- Kyselina citrónová (Penta, p.a., Česká republika)
- Kyselina octová (99,5%, Německo)
- Značené standardy *o*-anisidin-*d*₃, benzidin-*d*₈ (Dr. Ehrenstorfer™, LGC Group, USA)
- Interní standardy - dianilinomethane-*d*₄, *o*-toluidine-*d*₃, 4-chloroaniline-*d*₄, 4-aminobiphenyl-*d*₉, 3,3'-dichlorobenzidine-*d*₆ (CDN Isotopes Inc., Kanada)

7.1.2 Použitý materiál

- Síťky do oken (EAsy Life GmbH, Německo)
- Nerezová kolečka
- Nerezové kruhy
- Affinisep AttractSPE™ Disks SDB-RPS (průměr 47 mm, Waters, USA), dále jen Affinisep disk
- Empore™ SPE Disks SDB-RPS (průměr 47 mm, 3M, USA), dále jen empore disk
- AttractSPE® Prefilters Glassfiber (Affinisep, Francie), dále jen předfiltr
- Speedisky (Bakerbond® Speedisk®, J.T.Baker, Avantor USA)

7.1.3 Použité vybavení

- Vakuová rotační odparka Syncore® - Büchi (Švýcarsko)
- Syncore trubice se zúženým koncem, dále jen Syncore zkumavka
- Lyofylizátor (Gregor Instruments, L10-55 Pro, Česká republika)
- Třepačka (GFL/3020, Německo)
- pH metr Multi 3410

- Pinzety
- Analytické váhy Cubis®, Sartorius (Německo)
- Injekční stříkačky 2 ml
- Nylonové stříkačkové filtry (Chromafil Xtra PA-20/13, velikost pórů 0,20 μm , průměr 13 mm, MACHEREY-NAGEL, Německo)
- Vialky 20 ml
- Vialky 2 ml
- Pasteurovy pipety
- Automatické pipety Eppendorf (10-100 μl , 100-1000 μl , 0,5-5 mL, 1-10 mL, Německo)
- Skleněné desky o rozměrech 27x8 cm
- Gumové spacery
- Magnetické míchadlo (RTC Basic IKAMAG, Česká republika)
- Kancelářské spony
- Polykarbonátové vzorkovnice Nalgene 250 (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Elektrické pásky
- Skleněné nádoby
- Teplotní logger HOBO UA-002-64
- Vakuové filtrační zařízení (SPE disks Manifold – 47 mm)
- Vakuová pumpa (GAST, USA)
- Klíče

7.2 Příprava vzorkovačů

7.2.1 Kondicionace speedisků

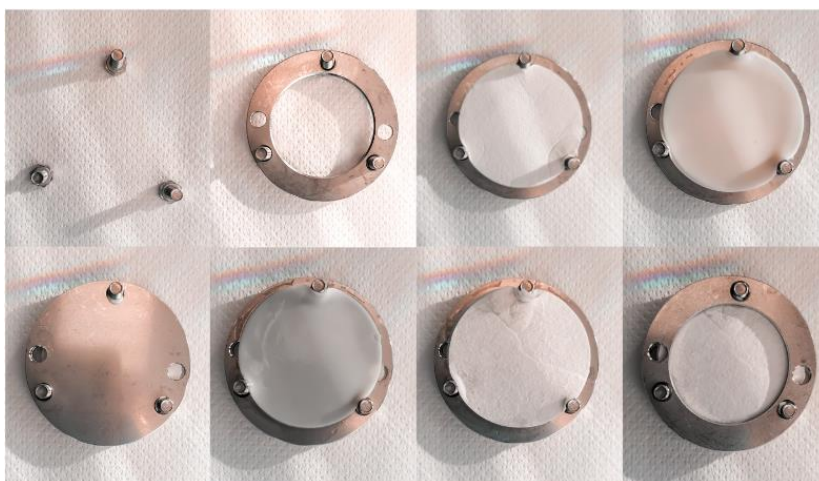
Zakoupené speedisky byly předem upraveny zkrácením okraje zhruba o polovinu pro účely pasivního vzorkování. Před použitím speedisků byla nutná kondicionace. Tento krok se provádí z důvodu odstranění nečistot z výrobního procesu a pro aktivaci sorbentu. Poté je doporučeno nenechat speedisky vyschnout, než dojde k extrakci (Hagen et al., 1990). Kondicionace probíhala v nerezovém aparátu s otvory pro umístění speedisků a vialek (Obrázek 16). Výpusť speedisku byla opatřena tenkou jehlou, která odváděla rozpouštědla ze speedisku do odpadu. Speedisky byly kondicionovány následovně: 10 mL acetonu, 10 mL dichlormetanu, 10 mL methanolu a 10 mL vysoce čisté vody (milliQ). Další rozpouštědlo bylo přidáno vždy v době, kdy předchozí rozpouštědlo bylo téměř pryč, aby se nepřerušil vodní sloupec v jehle a rozpouštědla mohla volně téct. Po promytí všemi rozpouštědly byly speedisky uchovány v nádobě s milliQ vodou do dalšího použití.



Obrázek 16: Kondicionace speedisků

7.2.2 Příprava Affinisep vzorkovačů

Affinisep disky musely být před použitím také kondicionovány. Nejprve jeden den v acetonu, druhý den v isopropanolu, třetí den v methanolu a čtvrtý den v miliQ vodě, ve které byly dále uchovány pro další použití. Všechny kovové části byly vloženy do acetonu a nechaly se v ultrazvuku po dobu alespoň pět minut. Předfiltry se nechali přes noc také v acetonu. Následně se nechaly vyschnout, aby se s nimi lépe manipulovalo a netrhaly se. Po přípravě všech komponentů se mohl vzorkovač sestavit. Jako první se připravily tři šroubky, na které se položil nerezový kruh. Následoval předfiltr, Affinisep disk a kovové kolečko. Takto byla připravena jedna polovina vzorkovače. Na kovové kolečko přišel opět Affinisep disk, předfiltr a nerezový kruh (Obrázek 17). Připravený vzorkovač byl upevněn třemi matickami s použitím klíčů a uložen v destilované vodě.



Obrázek 17: Znázornění skládání AD vzorkovače bez hydrogelu

Aby se vzorkovače nepoškodily, byly vždy po čtyřech svázány elektrikářskými páskami (Obrázek 18).



Obrázek 18: Sestavené AD vzorkovače a spojené dohromady

7.2.3 Příprava hydrogelových vzorkovačů

Pro tyto vzorkovače bylo nejdříve potřeba zhotovit hydrogelové vrstvy. Hydrogel byl vyroben smícháním 100 ml destilované vody a 1,5 g agarózy v kádince. Tato směs byla zahřáta těsně pod bod varu na magnetické míchačce s ohřevem nastaveným na 230 ° C a míchána pomocí teflonového magnetického míchadla. Kádinka byla přiklopena laboratorním sklíčkem, aby nedocházelo k vypařování, a tedy změně poměrového složení hydrogelu. Směs se nechala míchat po dobu zhruba 20 minut, než byla zcela čirá. S takto připravenou směsí se po vyčerení muselo postupovat vcelku rychle, aby nedocházelo k zatuhnutí. Druhým komponentem v hydrogelu byla síťka, zajišťující větší odolnost. Ta byla vystřižená zhruba ve velikosti skleněné destičky a podle šablony do ní byly razníkem vytlačeny otvory pro umístění šroubků při sestavování vzorkovače. Síťky byly před použitím vloženy do acetonu a následně do ultrazvuku na pět minut pro odstranění případných nečistot. Mezi dvě skleněné destičky byl vložen gumový mezerník, který zajistil přesnou tloušťku hydrogelu 0,1 cm, dále zde byla vložena připravená síťka s otvory. Takto připravená forma byla sepnuta dvěma kovovými spojnami. Při odebrání sklíčka z kádinky se vždy nahromaděná tekutina otřela o kraj kádinky, aby tekutina stekla a bylo zachováno složení. Hydrogel byl nabrán 10 mL pipetou a rovnoměrně vstříknut do připravené formy. Pokud vznikly bubliny, bylo možné síťku zlehka posunout, aby se volný prostor zaplnil. Po vyplnění celé formy trvalo zhruba pět minut, než hydrogel zcela ztuhnul (Obrázek 19). Po uplynutí této doby byly sundány spony a hydrogel vyňat z formy a přesunut do destilované vody, kde byl

uchován v ledničce pro další použití. Vzorkovač byl sestaven stejně jako předchozí AD vzorkovač, přičemž hydrogelová vrstva byla vložena mezi předfiltr a Affinisep disk.



Obrázek 19: (1) příprava hydrogelu s pomocí magnetické míchačky (2) forma na hydrogel s gumovými mezerníky (3) hydrogel zalitý ve formě se sítinou (4) hotový hydrogel

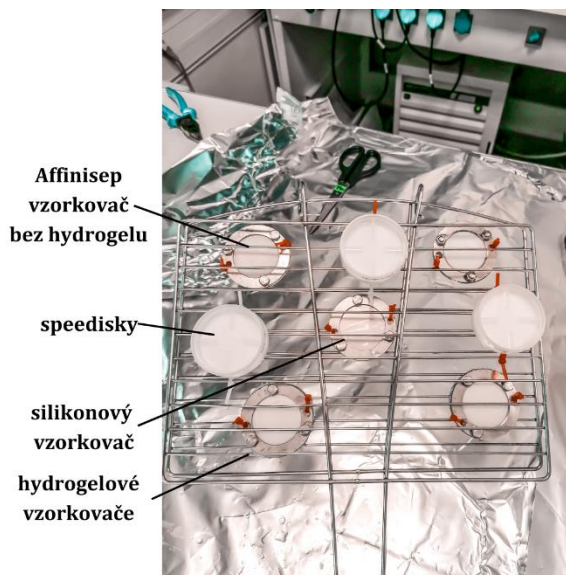
7.3 Terénní experiment

7.3.1 Design a průběh

Terénní experiment proběhl v období od 17. 11. 2022 do 12. 12. 2022, tedy celkem čtyři týdny, na přítoku a odtoku z čistírny odpadních vod v Modřicích, Brno. Za celou dobu experimentu byla průměrná teplota na přítoku $15,8 \pm 1,1$ °C a průměrná hodnota pH činila $7,88 \pm 0,13$. Na odtoku byla průměrná hodnota $16,1 \pm 0,9$ °C a průměrné pH $7,44 \pm 0,10$.

Začátku experimentu předcházela výroba všech typů vzorkovačů, dohromady bylo zhotoveno 60 speedisků, 78 AD vzorkovačů a 78 HPS. Dále bylo použito 40 silikonových vzorkovačů, které nebyly určeny pro vzorkování aminů, a tedy nejsou součástí této práce. Jednotlivé vzorkovače byly připevněny elektrikařskými páskami ke grilovací mřížce, která sloužila pro lepší manipulaci a spolehlivé upevnění a umístění vzorkovačů. Na jedné mřížce, tedy jeden set vzorkovačů, byly vždy dva AD vzorkovače bez hydrogelu, dva HPS, tři speedisky a jeden vzorkovač se silikonem (Obrázek 20).

Elektrikářské pásky byly barevně odlišeny v závislosti na době expozice vzorkovače. V tomto experimentu byly celkem čtyři – jednotýdenní, dvoutýdenní, třítýdenní a čtyřtýdenní.



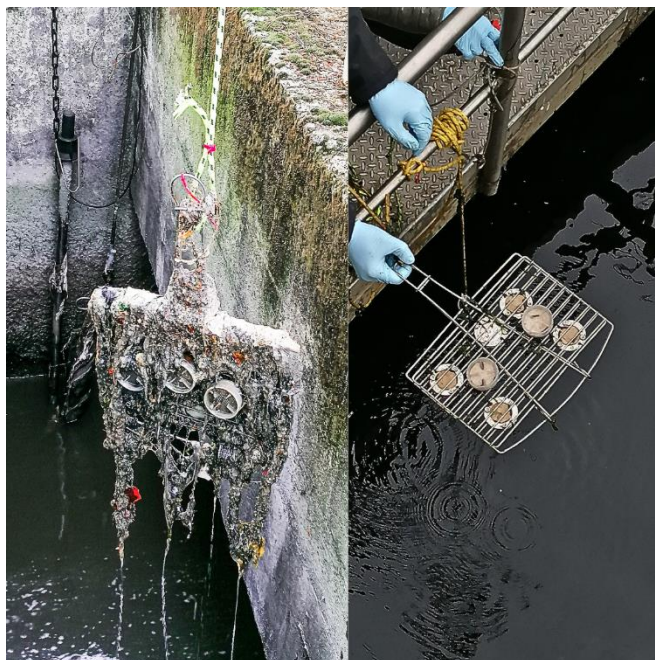
Obrázek 20: Ukázka připravené mřížky se vzorkovači, červené elektrikářské pásky naznačují, že se jedná o set vzorkovačů, který bude vystaven jeden týden

Vzorkovače, které byly vystaveny jednotýdenní expozici byly vyměněny celkem čtyřikrát, aby pokryly celou dobu expozice, dvoutýdenní a třítýdenní byly vyměněny dvakrát. Celkové schéma experimentu je zobrazeno v tabulce (Tabulka 5).

Tabulka 5: Schéma expozice vzorkovačů – jednotýdenní (červené), dvoutýdenní (žluté), třítýdenní (zelené), čtyřtýdenní (černé)

Set vzorkovačů	Expozice v týdnech				Zkratka	Expozice od	Expozice do
	1	2	3	4			
1	4				V1-V2	14.11.2022	21.11.2022
2		4			V2-V3	21.11.2022	28.11.2022
3			4		V3-V4	28.11.2022	05.12.2022
4				4	V4-V5	05.12.2022	12.12.2022
5	4				V1-V3	14.11.2022	28.11.2022
6			4		V3-V5	28.11.2022	12.12.2022
7	4				V1-V4	14.11.2022	05.12.2022
8		4			V2-V5	21.11.2022	12.12.2022
9	4				V1-V5	14.11.2022	12.12.2022

Jednotlivé sety vzorkovačů byly zavěšeny a připevněny lanem k zábradlí, které obklopovalo přítok, respektive odtok z čistírny odpadních vod. Výměna vzorkovačů probíhala každé pondělí, kdy z obou sledovaných míst byly vyměněny jednotýdenní expoziční sety za nové, popřípadě dvoutýdenní apod. Grilovací mřížku spolu se vzorkovači bylo vždy potřeba řádně očistit, jelikož na ní ulpívalo znečištění z odpadní vody, zejména pak v případě přítoku, kde se vyskytovaly různé předměty, které lidé vyhazují do toalet. Na odtoku byly přítomné řasy a různé živočichové (Obrázek 21).



Obrázek 21: Nalevo vidíme mřížku se vzorkovači exponovanou v přítoku, kde se nachází velké množství znečištění, co lidé splachují a které ještě nebylo odstraněno, napravo naopak vidíme vzorkovače umístěné na odtoku, kde převažují spíše vodní organismy

Při rozebírání vzorkovačů bylo potřeba zajistit čisté prostředí, tedy pracovat v rukavicích, nejlépe zamezit kontakt vzorkovačů s jinými předměty či zemí. Jednotlivé vzorkovače byly uvolněny z grilovací mřížky a uschovány po třech ve skleněných nádobách, následně vloženy do chladicího boxu a přemístěny do laboratoře, kde byly uchovány v mrazícím zařízení při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do dalšího zpracování. Pracovníky čistírny odpadních vod byly také každý den odebírány kompozitní vzorky vody, které se také každý týden převážely na Recetox. Vzorky vody z přítoku i odtoku byly uchovány v 250 mL polykarbonátových vzorkovnicích. Jejich celkové množství tedy bylo 56. Na grilovacích mřížkách byl také upevněn teplotní logger, který monitoroval teplotu a míru osvětlení po celou dobu expozice vzorkovačů.

7.3.2 Zpracování speedisků z terénního experimentu

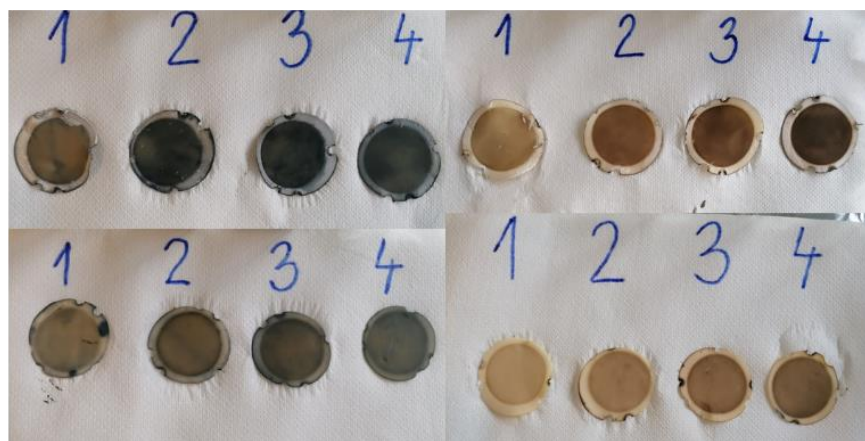
Před analýzou speedisků bylo potřeba navrhnout a provést zkušební extrakci aromatických aminů, abychom zjistili, které extrakční činidlo bude pro tyto látky nejvíce efektivní. Na základě standardního operačního postupu vytvořeného pro extrakci polárních organických látek (Fialová et al., 2024) byly zvoleny tři varianty – první obsahovala eluci 5 mL acetonitrilem, 5 mL acetonitrilem s 5% NH_3 a 50 mL dichlormetanem, druhá varianta spočívala v přidání 25 mL acetonitrilu s 5% NH_3 a třetí varianta obsahovala pouze 25 mL acetonitrilu. Všechny tři varianty byly provedeny v triplicátech, doplněny o triplikáty slepých vzorků – jeden ke každé variantě. Kondicionované speedisky byly před extrakcí obohaceny o 100 μL roztoku aromatických aminů. Následně byly uloženy ve skleněných vzorkovnicích a vloženy na $-80\text{ }^\circ\text{C}$ do mrazícího zařízení. Poté byly lyofilizovány (lyofilizátor L10-55 PRO, GREGOR Instruments) po dobu 24 hodin. Lyofilizace je metoda založená na sušení materiálů mrazem za použití vakua. V tomto případě jej provádíme, abychom se zbavili přebytečné vody. Před lyofilizací bylo také nutné povolit víčko od vzorkovnice, z důvodu úplného odstranění vody. Po skončení lyofilizace byla připravena stejná aparatura jako při kondicionaci, avšak pod výpusť jehly byly umístěny Syncore zkumavky, kam byl vypouštěn eluát. Jehly byly vždy mezi jednotlivou elucí ultrazvukovány po dobu pěti minut v acetonu, aby byly zbaveny případných nečistot. Výsledné eluáty byly odpařeny na evaporátoru Buchi Syncore. Dichlormetan byl odpařován při nastavení spodního ohřevu na $55\text{ }^\circ\text{C}$ a horního ohřevu na $50\text{ }^\circ\text{C}$, plných otáček 300 rpm a tlaku na 500 mBar. Odpařování dichlormetanu trvalo zhruba 30 minut. V případě acetonitrilu se tlak postupně snižoval na 180 mBar a teplota se naopak zvýšila na $65\text{ }^\circ\text{C}$ na spodním ohřevu a na $60\text{ }^\circ\text{C}$ na horním ohřevu. Odpařování acetonitrilu trvalo déle, zhruba 40 minut. Pro správnou funkci přístroje muselo být obsazeno všech šest pozic. Pokud tedy zbývalo méně vzorků, volná pozice se zaplnila prázdnou Syncore zkumavkou. Po odpaření na 0,5 ml byl vzorek kvantitativně přenesen do 2 ml stříkačky, Syncore zkumavka byla dvakrát promyta acetonitrilem a vzorek opět přenesen do stříkačky na objem 1 ml a obsah stříkačky byl stlačen přes nylonový stříkačkový filtr do předem zvážené 2 ml vialky, aby se odstranily jakékoliv nečistoty (Obrázek 22). Takto připravený vzorek se opět zvážil a poté uchoval v ledničce do analýzy pomocí plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem. Z výsledků bylo zjištěno, že nejlepší výtěžnost poskytuje kombinace 5 mL acetonitrilu, 5 mL acetonitrilu s 5% amoniakem a 50 mL dichlormetanu, proto se všechny speedisky z terénního experimentu eluovaly kombinací těchto rozpouštědel.



Obrázek 22: Zpracování speedisků – (1) – exponované speedisky, (2) speedisky ve vzorkovnicích před lyofilizací, (3) speedisk po lyofilizaci, (4) extrakce rozpouštědly, (5) zakoncentrování na Buchi Syncore, (6) finální vzorek

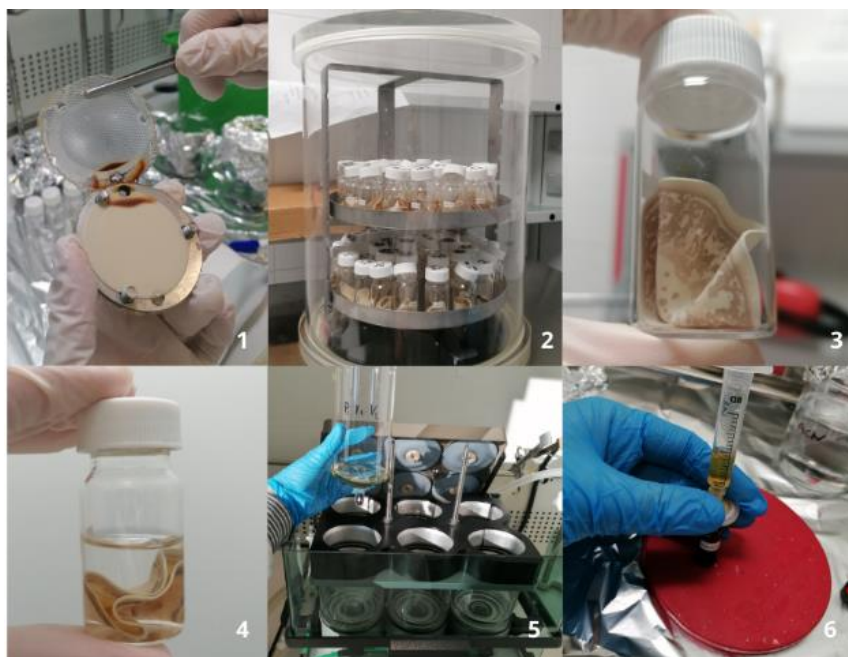
7.3.3 Zpracování Affinisep disků

Tyto vzorkovače bylo potřeba nejdříve rozmontovat, aby mohl být sorpční disk extrahován samostatně. Jednotlivé vzorkovače byly rozebrány a hydrogel i předfiltr byly vyhozeny. Affinisep disky byly přemístěny do předem zvážených 20 mL vialek a zmrazeny (Obrázek 23).



Obrázek 23: Vyobrazení sorpčních disků po vyjmutí ze vzorkovače. V levé polovině vidíme Affinisep disky ze vzorkovače AD, přičemž v horní polovině jsou Affinisep disky na přítoku a dole na odtoku. V pravé polovině pak vidíme sorpční disky z hydrogelového vzorkovače, v horní polovině z přítoku a v dolní polovině z odtoku

Ke každému disku byly také přidány značené standardy o objemu 100 μL a koncentraci 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Před lyofilizací byly přemístěny na 30 minut do $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a poté se lyofilizovaly s uvolněnými víčky 24 hodin. Po lyofilizaci byly všechny vzorky zváženy, aby se zjistila hmotnost sorbentu. Následně se ke každému vzorku přidalo 10 mL acetonitrilu s 5% amoniakem a zajistilo se, aby byl každý disk zcela ponořen. Takto připravené vzorky byly třepány na třepačce do druhého dne při otáčkách 100 rpm. Druhý den byl extrakt přemístěn pipetou do Syncore zkumavek, které se zakryly alobalem a ponechaly do dalšího dne. K diskům bylo opět přidáno 10 mL acetonitrilu, ale nyní již bez amoniaku. Vzorky se opět nechaly třepat do druhého dne. Extrakt ze druhého dne byl kvantitativně přidán do Syncore zkumavek k extraktům z prvního dne. Následně se přešlo opět k zakoncentrování na evaporátoru Buchi Syncore v přístrojovém nastavení pro acetonitril a proběhl stejný postup jako v případě zakoncentrovávání extraktu ze speedisků (Obrázek 24).



Obrázek 24: Znázornění analýzy disků - (1) rozmntování vzorkovačů, (2) lyoflizace, (3) disk po lyofilizaci, (4) extrakce do acetonitrilu během třepání, (5) zakoncentrování na Buchi Syncore, (6) finální vzorek

7.3.4 Zpracování vzorků vody

Vzorky vody byly vytaženy z mrazícího zařízení, den před jejich zpracováním, aby byly kompletně rozmrzlé. Všechny vzorkovnice byly zváženy, poté byl ke každé z nich přidán značený standard o objemu 100 μL a koncentraci 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 7,5 mL kyseliny octové (0,5 mol L^{-1}). Vzorky byly následně zpracovány pomocí extrakce na tuhé fázi (SPE; Obrázek 25), kde byl jako sorbent použit Empore disk (SDB-RPS, z angl. styrene-divinylbenzene – reversed phase sulphonate).



Obrázek 25: Vzorek vody, který protéká přes Affinisep disk pro extrakci analytů

Na disk byl umístěn předfiltr, aby se zamezilo ucpání sorbentu, jelikož zejména vzorky vody z přítoku byly velmi znečištěné (Obrázek 26). Občas bylo potřeba vyměnit předfiltr dvakrát, jelikož byl ucpáný a další voda neprotékala ani s použitím vakua.



Obrázek 26: Čistý sorbent připravený pro profiltrování vzorku vody (nalevo), znečištěný filtr poté, co byl profiltrován vzorek vody (vpravo)

Vzorek se nalil do skleněného hrdla, odkud po spuštění tlaku a otevření pozice proudila voda skrze filtr a Empore disk do sběrné lahve rychlostí zhruba $10\text{--}15\text{ mL min}^{-1}$. Aromatické aminy tak byly extrahovány na sorbent, který se po protečení veškerého vzorku odebral a vložil do předem zvážené a popsané 20 ml vialky a uložil do mrazícího zařízení při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokud nedošlo k dalšímu zpracování. Následovala lyofilizace, před kterou byl vzorek zmrazen na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Další průběh byl stejný jako v předchozí kapitole pro Affinisep disky.

7.4 Kalibrační experiment

7.4.1 Design a průběh

Na základě výsledků z terénního experimentu (kapitola 8.1.2) byl vybrán jeden vzorkovač, který byl kalibrován za laboratorních podmínek. Jednalo se o vzorkovač s Affinisep diskem a hydrogelem, který se ukázal jako nejspolehlivější. HPS byl ze všech vzorkovačů nejméně ovlivněn rozdílnými podmínkami na přítoku a na odtoku a poskytoval nejspolehlivější výsledky vzorkovacích rychlostí. Laboratorní kalibrace byla naplánována na 16 dní, s odběrem triplikátů vzorkovačů vždy po dvou až třech dnech spolu s odběrem triplikátu vzorků vody do 250 mL polykarbonátových vzorkovnic. Bylo tedy potřeba vyrobit 27 nových vzorkovačů s hydrogelem, jejichž příprava byla provedena stejně jako v kapitole 7.2.3.

Laboratorní kalibrace probíhala v akváriu o rozměrech $100 \times 40 \times 40\text{ cm}$ a objemu 160 L (Obrázek 27).

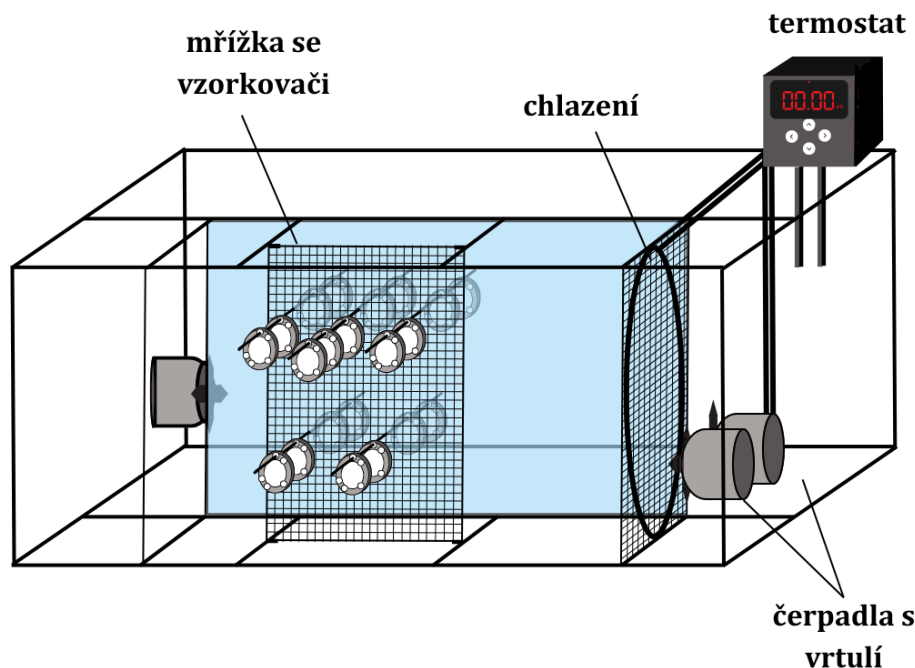


Obrázek 27: Akvárium se vzorkovači

Akvárium bylo před experimentem několikrát vymyto čistou vodou a kyselinou citrónovou. Dále bylo akvárium opatřeno termostatem, pro kontrolu teploty zhruba

kolem 20 °C, a třemi ponornými čerpadly s průtokem vody $\sim 4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, která zajišťovala tok o předpokládané rychlosti $\sim 13 \text{ cm s}^{-1}$ (Urík & Vrana, 2019). K akváriu byla přistavena HPLC pumpa, která po odstartování experimentu dopouštěla těkavější aromatické aminy ze zásobního roztoku o různé koncentraci kontinuálním tokem $0,005 \text{ mL min}^{-1}$. Koncentrace každého aminu v tomto roztoku byla stanovena na základě předpokladu, že vrstva vzduchu nad hladinou má zhruba 13,1 L a tato vrstva se každý den vymění celkem 10x, přičemž je mezi vzduchem a vodou ustálena rovnováha. Z toho bylo s pomocí Henryho konstanty K_H vypočítáno, jaké množství látky se uvolní z vody do vzduchu za hodinu, a kolik je tedy potřeba dodávat, aby koncentrace ve vodě neklesala. Kritérium pro výběr látek byla hodnota Henryho konstanty $K_H \geq 1,20 \times 10^{-7} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$. Konkrétně se jednalo o látky TBA, AZOB, CUMI, CYHA, 4CHA, DPHA, 26XYL, 4CHOT, OTLD, 3CHOT, OANI, 1NAPA, 2AMB, 4AMB a PCRE. Látky s nižší hodnotou K_H by podle vybraných předpokladů vyžadovaly příliš nízkou koncentraci v zásobním roztoku a jejich přídavek by se nijak zásadně neprojevil.

Akvárium bylo napuštěno kohoutkovou vodou a všechny přístroje byly zapnuty dva dny před zahájením, aby se ustálil tok zásobního roztoku, stabilizovala teplota, a zkontrolovala funkčnost celého aparátu. Druhý den bylo přidáno 10 mL roztoku s aromatickými aminy v acetonitrilu, aby byla výsledná koncentrace v akváriu $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Následně se voda opět nechala ustálit do dalšího dne pro případné nasycení sorpčních míst na povrchu materiálů v akváriu. Samotná kalibrace začala 15. 11. 2023 vložением kovové mřížky, na které byly připevněny vzorkovače. V akváriu byla pro upevnění mřížky připravená kovová konstrukce, která zajišťovala, aby se mřížka neposouvala po toku vody. Jednotlivé vzorkovače byly nasunuty na kovové tyče skrze otvory v nerezových kruzích a upevněny matickami, ve dvou řadách nad sebou a vždy dva nebo tři z každé strany mřížky na jedné tyči (Obrázek 28).



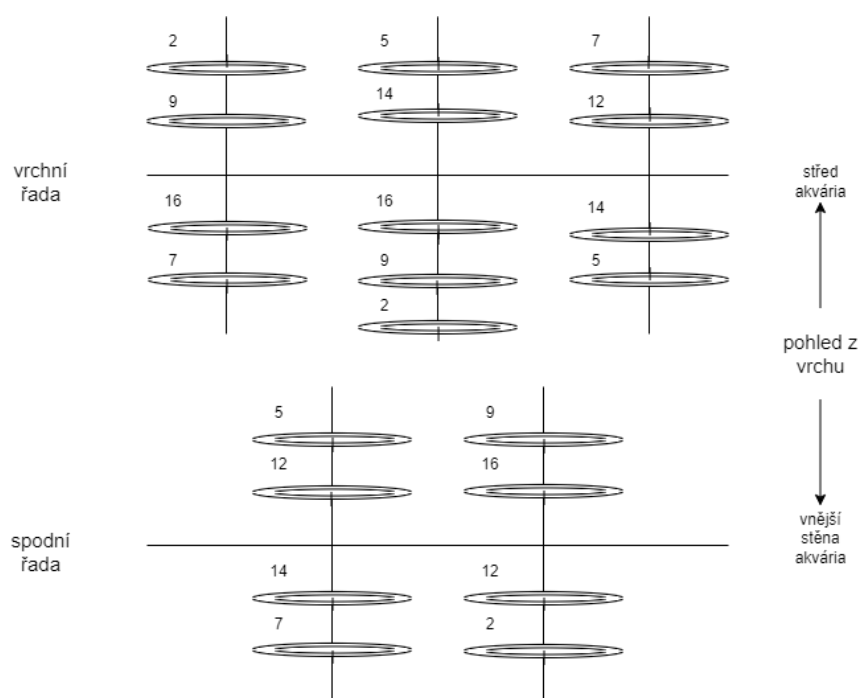
Obrázek 28: Schéma přístrojů a vzorkovačů umístěných v akváriu během experimentu

K mřížce byl elektrikařskou páskou také připevněn teplotní logger HOB0 pro zachycení teploty a míry osvětlení po celou dobu experimentu. Celé akvárium bylo přiklopeno deskou a alobalem, aby se zmírnil únik látek do vzduchu. Souběžně bylo použito celkem šest slepých vzorků – tři procesní a tři fabrikační. Více o slepých vzorcích je zmíněno v kapitole 7.6.

První odběr vzorkovačů byl po dvou dnech, další v 5., 7., 9., 12., 14., a 16. dni, kdy experiment skončil. Kovová mřížka byla vždy vytáhnutá z akvária ven, následně byly odebrány tři vzorkovače a zaznamenána jejich poloha na mřížce (Obrázek 29). Poté se kovová mřížka vložila zpátky do akvária, ale otočena o 180°, tedy vzorkovače, které předtím byly umístěny směrem dovnitř akvária nyní směřovaly směrem ven. Tímto způsobem bylo za cíl omezit vliv rychlosti proudění vody, která se mohla v různých částech aparatury mírně lišit. Souběžně při každém odběru bylo změřeno pH, které se pohybovalo v rozmezí 7,95 - 8,25.

Vzorky vody byly odebrány do předem zvážených polykarbonátových vzorkovnic ve stejných dnech jako vzorkovače, a navíc i hned při spuštění kalibrace. Do vzorkovnice se vždy nejdříve dvakrát nabrala voda a propláchl, až po třetím nabrání byl vzorek vody kompletní. Po změření hmotnosti byly vzorky přesunuty do mrazicího zařízení při -20 °C do dalšího zpracování.

Vzorkovače s Affinisep disky byly po každém odběru okamžitě rozmontovány, sorpční disky byly vloženy do předem zvážených 20 ml vialek a uloženy do mrazicího zařízení při -20 °C. Experiment byl ukončen po plánovaných 16 dnech 1. 12. 2023.



Obrázek 29: Schéma umístění vzorkovačů v akváriu a zapsání jejich odběrů v příslušné dny

7.4.2 Analýza vzorků

Zpracování vzorků vody pro analýzu probíhalo odebráním 950 μL vody ze vzorku do stříkačky přes nylonový filtr spolu s 50 μL roztoku značených standardů v acetonitrilu. Takto připravený vzorek, tedy s vysokým obsahem vody, se musel analyzovat s pomocí plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem nejlépe ten den, a to na základě doporučení analytiků, kteří si všímali, že se aromatické aminy ve vzorku s nízkým objemem nejspíše sorbují na skleněné stěny vialek.

Po změření a vyhodnocení dat se však ukázalo, že tato metoda přímého nástřiku nestačí pro zachycení nízkých koncentrací látek ve vodě, a tak bylo potřeba vzorky vody zakonzentrovat. Proto se vzorky v polykarbonátových vzorkovnicích opět zvážily a proběhl stejný způsob zpracování, jako je popsán v kapitole 7.3.4. Vzorky Affinisep disků byly zpracovány stejně, jak je popsáno v kapitole 7.3.3.

7.5 Experiment na úbytek AAs

Po vyhodnocení výsledků z kalibračního experimentu bylo zřejmé, že je problém se vzorky vod, jelikož u většiny aromatických aminů nebyly naměřeny očekávané koncentrace, i když bylo zřejmé, že v akváriu AAs byly obsaženy díky výsledkům ze vzorkovačů. Proto byla stanovena hypotéza, kdy se přepokládalo, že AAs nejsou stabilní ve vzorcích vody uložených v polykarbonátových vzorkovnicích, i přesto, že jsou uloženy

v mrazícím zařízení. Proto byl proveden experiment na stanovení úbytku látek. Tři polykarbonátové vzorkovnice byly naplněny vodou o objemu 250 mL a doplněny o 1 mL roztoku aromatických aminů pro výslednou koncentraci $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Tyto triplikáty byly doplněny o jednu vzorkovnici s čistou vodou bez aminů, sloužící jako slepý vzorek. Následně bylo odebráno vždy 100 μL z každé vzorkovnice v čase 0, 2, 5, 7 a 9 a doplněno o 50 μL značených standardů (roztok *o*-anisidinu- d_3 a benzidinu- d_8 o koncentraci $5 \mu\text{g mL}^{-1}$) a 850 μL acetonitrilu, aby se případně zamezilo dalším ztrátám před analýzou kapalinovou chromatografií.

7.6 QA/QC

Průběh všech experimentů byl doplněn o slepé vzorky. Pro každý typ vzorkovače byly zhotoveny slepé vzorky, což byly čisté vzorkovače uložené v miliQ vodě, které byly před extrakcemi obohaceny značenými standardy a následně prošly stejnými laboratorními úpravami jako vzorkovače v terénním nebo v kalibračním experimentu. Pro terénní experiment bylo zhotoveno celkem devět slepých vzorků – tři AD vzorkovače, tři HPS a tři speedisky. V případě kalibračního experimentu s jedním typem vzorkovače bylo připraveno šest slepých vzorků – tři procesní a tři fabriční. Procesní vzorky byly vytahovány z vody souběžně se vzorkovači z akvária a fabriční blanky byly po celou dobu pouze uzavřeny v čisté vodě.

Také byly připraveny tři referenční vzorky pro terénní experiment a tři pro kalibrační experiment. Referenční vzorky obsahovaly 950 μL acetonitrilu a 50 μL značených standardů.

Při vyhodnocování dat terénního experimentu byly vyloučeny látky, u kterých byla ve více než polovině vzorků zaznamenána koncentrace nižší než limit kvantifikace (LOQ, z angl. slova limit of quantification). Pro zbylé látky byla provedena korekce změřených koncentrací na hodnoty ve slepém vzorku, tedy odečtení průměru koncentrace ve slepých vzorcích od hodnoty koncentrace každého vzorku. Látky s výtěžností nižší než 40 % byly považovány za semikvantitativní. U Affinisep disků se jedná o látky: 1NAPA, 2APY, 44ODA, ANI, PAAZB, PANA, BNZD, CYHA, IPDD, IQ, ODAN, DMPD a TBA. U speedisku 44ODA, 5CARB, ANI, CUMI, CYHA, DADPM, IPPD, OAAT a DMPD, a u vzorků vody 1NAPA, 44ODA, PANA, BNZD, IPPD, IQ, OANI, ODAN a DMPD.

7.7 Instrumentální analýza

Vzorky z terénního i kalibračního experimentu byly analyzovány kapalinovou chromatografií (Agilent 1290 II LC Systém, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) s kolonou Accucore™ Fenyl-X ($150 \times 2,1 \text{ mm}$, velikost částic $2,6 \mu\text{m}$, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). Vzorky uchované v acetonitrilu byly před analýzou zředěny vodou na

70% v/v. Teplota kolony byla udržována na hodnotě 35 °C. Vzorek byl nastříkovan o objemu 2 μL . Ke vzorku byl přidán také interní standard o objemu 1 μL . Ten tvořilo pět deuterovaných aromatických aminů (o koncentraci 100 ng mL⁻¹). Jako mobilní fáze sloužila směs vody a acetonitrilu obsahující 0,1 % v/v kyseliny mravenčí. Gradient mobilní fáze byl následovný: na počátku 10% acetonitril, v čase 0-7 minut postupný nárůst z 10% acetonitrilu na 98% acetonitril, v čase 7-12 minut konstantně 98% acetonitrilu, a v čase 12-15 minut postupný pokles z 98% acetonitrilu na 10% acetonitril za následného ustavovacího kroku 10% acetonitrilu na 24 minut. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,4 mL min⁻¹.

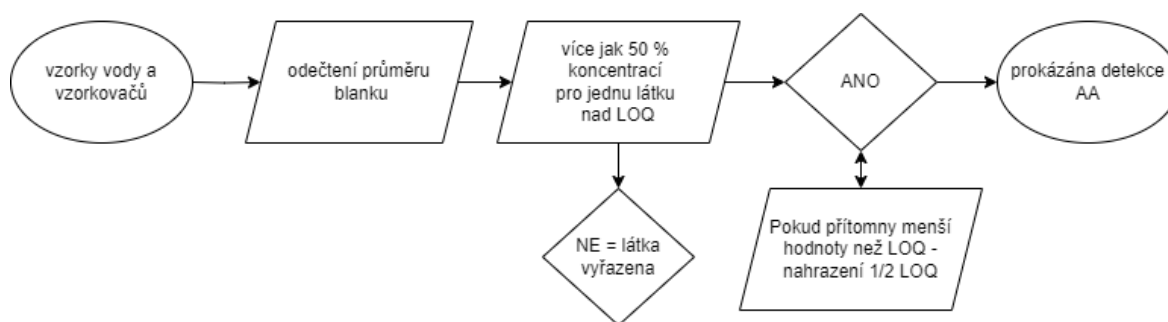
Pro detekci byl zvolen hmotnostní spektrometr Agilent 6495 A Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) s rozlišením 0,7 amu (FWHM, z angl. slova full width at half maximum) s hmotnostním rozlišením (autotune) a přesností 0,1 amu v rozmezí 5-1000 m/z. Parametry iontových zdrojů byly nastaveny následovně: teplota plynu 280 °C, průtok plynu 15 L min⁻¹, tlak v rozprašovači 25 psi, teplota plášťového plynu 380 °C, průtok přídavného plynu 12 l min⁻¹, napětí kapiláry 3000 V (+) a napětí trysky 300 V. Přístroj pracoval v režimu ESI-pozitivního dynamického monitorování vícenásobných reakcí (dMRM, z angl. slova dynamic multiple reaction monitoring). Pro MS/MS analýzy byly použity dva MS/MS přechody každého analytu, jedna sloužící pro kvantifikaci a druhý sloužící pro kvalifikaci. Pro analýzu dat dMRM aminů při optimalizovaných parametrech LC-MS/MS byl použit software Agilent MassHunter Workstation, LC/MS DATA Acquisition for 6400 Series Triple Quadrupole, verze B.08.00. Agilent MassHunter Workstation Software, Quantitative Analysis, verze B.07.01 pro QQQ byl použit pro kvantifikaci AAs.

8 Výsledky a diskuze

8.1 Terénní experiment

8.1.1 Detekce aromatických aminů v povrchových a odpadních vodách

Pro stanovení počtu detekovaných látek jednotlivými vzorkovači byla data nejprve korigována podle slepých vzorků. Aby byla látka považována za detekovanou, musela následně splňovat kritérium, že koncentrace nejméně poloviny vzorků musely být nad limitem kvantifikace (LOQ). V případě, že látka kritérium splnila, ale hodnoty koncentrace v některých vzorcích byly pod LOQ, byly tyto nahrazeny polovinou hodnoty LOQ pro danou látku. Schéma hodnocení dat je zobrazeno na obrázku (Obrázek 30).



Obrázek 30: Schéma hodnocení dat pro výslednou informaci o detekci AAs vzorkovači a vzorky vod

Celkem bylo detekováno více látek na odtoku z čistírny odpadních vod než na přítoku (s výjimkou HPS vzorkovače). Data koncentrací ve vodě byla otestována na normalitu Kolmogorov-Smirnov testem ($p > 0,05$), přičemž všechny vyhodnocené koncentrace normalitu splňovaly. Z celkových 45 sledovaných látek bylo na přítoku detekováno 12 látek ze vzorků vody, 15 látek ze speedisku, 22 z HPS vzorkovače a 24 z AD vzorkovače. Na odtoku bylo detekováno celkem 17 látek ze vzorků vody, 20 ze speedisku, 22 z HPS a 27 z AD vzorkovače.

V případě vzorků vody se v nejvyšším množství vyskytoval ANI, CYHA a 24DAT. ANI byl ve vysokých množstvích detekován ve vodě na přítoku i na odtoku, zatímco CYHA a 24DAT byly detekovány pouze ve vzorcích vody z přítoku. V případě 24DAT dosahovala střední koncentrace na přítoku až $99\,491\text{ ng L}^{-1}$, přičemž z 28 dní přesáhla koncentrace $100\,000\text{ ng L}^{-1}$ ve třinácti dnech. Naměřené maximum bylo $150\,082\text{ ng L}^{-1}$. Koncentrace CYHA byly podstatně nižší, a to 2877 ng L^{-1} (medián), přičemž na odtoku již nebyl detekován. V případě ANI byl pozorován podobný trend, na přítoku vyšší koncentrace, konkrétně 1052 ng L^{-1} (medián) a na odtoku 122 ng L^{-1} (medián). Účinnost

ČOV odstranit aromatické aminy je diskutována více v kapitole 8.1.3. Významným zdrojem 24DAT je výroba polyurethanu, barviv, polymerů a heterocyklických sloučenin (EPA, 2000). Toto široké využití může vést k vysokým koncentracím, které jsme naměřili na přítoku ČOV. ANI nachází také uplatnění v různých odvětvích průmyslu. Slouží pro výrobu barviv, pryže, pesticidů, léčiv a také plastů (Zhang et al., 2022). CYHA je používán zejména v organické syntéze při výrobě pesticidů, změkčovadel či emulgátorů (Budavari, 1966).

Co se týká množství zachyceného ve vzorkovačích, jednoznačně dominoval 24DAT detekovaný SD vzorkovačem, kde jeho zachycené množství činilo 197 089 ng ve vzorkovači na přítoku a 21 799 ng ve vzorkovači na odtoku, a to v případě nejdelší expozice, tedy čtyřtýdenní. CYHA byl detekován ve vysokém množství vždy na přítoku, avšak v případě AD vzorkovače byl CYHA zachycen ve vysokém množství jak na přítoku, tak na odtoku. Zajímavé je, že AD vzorkovač jako jediný zachytil 24DAT a CYHA na přítoku a na odtoku, zatímco speedisk, HPS a vzorky vody poukazují na nulové koncentrace na odtoku. Z observace dat dále bylo zaznamenáno, že u vzorkovače AD jsou naměřené množství ve většině vzorků mnohokrát vyšší, což se dá vysvětlit i vyšší vzorkovací rychlostí u tohoto vzorkovače. Největší množství zachyceného HPS vzorkovačem bylo pro látku anilin na přítoku, konkrétně 11 835 ng ve vzorkovači, a druhou byl CYHA v množství 10 790 ng ve vzorkovači. U speedisku bylo naopak nejvíce detekováno CYHA, v množství 11 173 ng ve vzorkovači a anilinu 5 116 ng ve vzorkovači. Všechny uvedené hodnoty jsou mediány.

Při zpracování sorbentů bylo pozorováno, že dochází k uvolnění částic z Affinisep disku (Obrázek 31). Jelikož byl sorbent extrahován v čistém acetonitrilu, nepředpokládáme velký vliv na výtěžnost, avšak mírná ztráta může být v důsledku uvolňování vláken způsobena.



Obrázek 31: Částice na dně Syncore zkumavky, které se uvolnily z Affinisep disku

Látky, které jsou označené dle klasifikace IARC za potvrzené karcinogeny, jmenovitě 2NAPA, 44TDA, MBOCA, BNZD a OTLD, byly detekovány s výjimkou 2NAPA, který nebyl přítomen v žádných vzorcích. Zajímavé je, že BNZD a MBOCA byly detekovány pouze na odtoku, což nasvědčuje možnému vzniku během procesu čištění. Výjimkou však je vzorkovač HPS, který jej detekoval i na přítoku. Ve vzorcích vody jeho koncentrace na odtoku činila 87 ng L⁻¹. MBOCA byl naopak detekovaný na odtoku pouze speediskem a AD vzorkovačem, avšak jeho množství nepřesáhlo 2 ng na vzorkovač. OTLD byl naměřen ve všech vzorcích, jak na přítoku, tak na odtoku. Jeho průměrná koncentrace ve vodě na přítoku byla 33 ng L⁻¹ a maximální koncentrací 86 ng L⁻¹ a na odtoku činila průměrná koncentrace 25 ng L⁻¹ s maximem 72 ng L⁻¹.

V tabulce (Tabulka 6) vidíme červeně zaznačené hodnoty množství zachyceného vzorkovačem, které se pohybují v rozmezí od 350 do 197 089 ng. V případě oranžového zbarvení jsou množství v rozmezí 35 až 166 ng, žlutá 5–25 ng a světle zelená 2–4 ng. V případě tmavě zelené bylo zachycené množství nižší než 1 ng. Aromatické aminy, které jsme nedetekovali ve vzorkovači ani ve vodě byly Q15, 44ODA, MEMDA ODAN, 33DMB, 2NAPA, 2NITA, 2A4NT, 33DCB, 2BRA, OAAT, AZOB a DMPD.

Tabulka 6: Přehled aromatických aminů detekovaných jednotlivými vzorkovači a z kompozitních vzorků vody a jejich střední koncentrace za období čtyř týdnů

	voda		speedisk		HPS		AD	
	IN	EF	IN	EF	IN	EF	IN	EF
	12	17	15	20	22	20	24	27
Látka	ng L ⁻¹		ng vzorkovač ⁻¹					
2APY	32	72	16	47	125	160	350	559
24DAT	99491	0	0	0	0	0	197089	21799
DADPM	0	14	12	5	137	12	58	200
BNZD	0	87	0	78	46	47	0	131
OANI	77	89	35	100	44	71	58	138
OTLD	33	25	34	40	39	20	72	57
3AAP	0	0	0	0	0	5	0	0
4CHA	5	2	10	7	10	5	15	17
26XYL	0	41	8	8	10	0	23	17
44TDA	1	0	0	3	2	3	2	3
1NAPA	0	0	2	4	9	10	12	32
4CHOT	0	0	0	0	0	0	0	0
3CHOT	0	0	0	0	0	0	0	1
2AMB	0	0	0	0	0	0	1	1
4AMB	0	0	0	0	1	0	1	0
PAAZB	0	0	0	0	0	0	0	0
MBOCA	0	0	0	2	0	0	0	1

IQ	1	2	0	0	0	1	0	1
CUMI	0	9	0	0	0	3	0	0
5CARB	3	5	3	6	1	2	3	11
ANI	1052	122	5116	38	11835	30	37655	507
3CARB	2	2	4	2	1	1	2	2
CYHA	2877	0	11173	3	10790	0	23152	1293
DPHA	0	0	8	2	4	0	8	0
HRMA	42	7	16	6	13	4	19	8
HRMI	0	1	0	0	0	0	0	0
MICHK	1	2	1	0	1	0	2	0
IPPD	0	0	1	0	20	5	13	15
NORH	95	20	44	5	35	5	54	15
PANA	2	1	6	0	2	1	5	2
TBA	7	0	40	4	166	72	164	71

Vzorkování aromatických aminů v povrchových vodách je často omezeno na místa zatížená průmyslovými odpadními vodami, či přímo analýzou AAs v průmyslových odpadních vodách. Ke stejnému závěru došli i autoři Poste et al. (2014), kteří se snažili porovnat koncentrace a zdroje AAs v povrchových vodách. Docházejí k závěru, že nedostatek dat o koncentraci aromatických aminů, i přes jejich široké použití, je v důsledku obtížnosti je analyticky změřit.

Muz et al. (2017) zkoumali AAs v řece Rýn za účelem objasnění mutagenity povrchových vod. Tato řeka slouží jako zdroj pitné vody pro více než 20 miliónů lidí v Německu a Nizozemsku. Existovaly důkazy o její mutagenitě, avšak nikdy nebyly identifikované konkrétní látky, které byly příčinou. Bylo zde detekováno celkem 21 skupin mikropolunatů, které se běžně nachází v povrchových vodách, přičemž zde byly naměřené i OTLD, 26XYL, NORH, karbolin a 5CARB. U OTLD a 26XYL byla následně potvrzena i mutagenní aktivita Amesovým testem. U zbylých třech se autoři domnívají, že se mohou chovat jako komutageny, což jsou látky, které samy o sobě nejsou mutagenní, ale v přítomnosti mutagenu zvyšují mutagenní aktivitu. Autoři také uvádějí, že karbolin a 5CARB ještě předtím nebyly nikdy detekovány jako environmentální polutanty. Dále zjistili, že pokud je ve vzorku přítomna pouze jedna látka, mutagenní aktivitu nevykazuje. Pokud však k ní přidali další, mutagenní aktivita se zvýšila. Zjištění autorů tak pomáhá objasnit synergický efekt těchto látek s detekovaným NORH a karboliny. Také zjistili, že pokud je ve směsi přítomna další látka obsahující dusík, mutagenita se také zvyšuje. Tyto látky byly detekovány i v terénním experimentu této práce s výjimkou karbolinu. A jelikož u směsi těchto AAs byl pozorován synergický efekt, je dost pravděpodobné, že k potenci účinků dochází i zde na odtoku z ČOV.

Ve studii Reifferscheid & Grummt (2000) také zkoumali povrchové vody v Německu. V Rýně naměřili OTLD, OANI, 2A4NT a m-kresidin v koncentraci do 30 ng L⁻¹. Naopak vysoké koncentrace byly naměřené v Labi, u obce Schmilka, která je v těsné

blízkosti Národního parku Saské Švýcarsko a leží přímo na hranici s Českou republikou. Zde byly detekovány stejné látky, avšak v koncentracích vyšších než 100 ng L⁻¹ s maximální koncentrací 500 ng L⁻¹ pro 2A4NT. I zde se detekce látek shoduje s výsledky naší práce, kdy OTLD a OANI byly oba detekovány na odtoku.

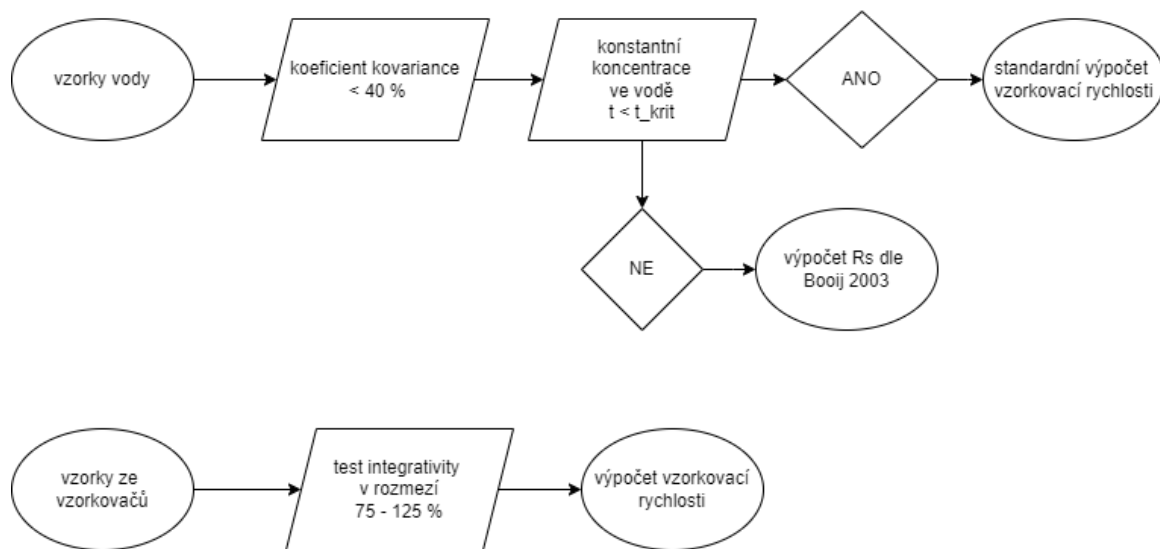
Ve studii Kataoka et al. (2000) byla zkoumána mutagenní aktivita v řece Dunaj ve Vídni. Tato řeka zde slouží také jako zdroj pitné vody. Detekce byla zaměřená zejména na heterocyklické aminy, které se autoři snažili z řeky izolovat pomocí metody, která však neposkytovala kvantitativní výsledky. Mutagenní aktivita byla prokázána ve všech vzorcích podél Dunajského kanálu v testu *S. typhimurium* TA98 a YG1024 s metabolickou aktivací. Vyšší mutagenita u YG1024 než u TA98 napovídá přítomnosti mutagenů typu aromatických aminů. Později byl proveden další test s cílem zachytit větší množství aromatických aminů, přičemž byly pozorovány podobné výsledky mutagenních testů a ve vzorcích byly detekovány heterocyklické aminy jako IQ, MeIQX či PhIP. V terénním experimentu v naší práci byl z těchto látek detekován pouze IQ, a to vždy pouze na odtoku z čistírny odpadních vod. Detekovaný byl ze vzorků vod, HPS a AD vzorkovačem, přičemž jeho maximální koncentrace naměřená ve vodě byla 9 ng L⁻¹.

Autoři studie Alves de Lima et al. (2007) zkoumali vliv továrny na zpracování azobarviv, která byla asociována s mutagenními účinky řeky Cristais v Brazílii, do které vypouštěli své odpadní vody. Tato továrna byla vzdálena zhruba 6 km od úpravny pitné vody a ovlivňovala tak kvalitu pitné vody pro zhruba 60 000 obyvatel. V odtoku z továrny bylo detekováno několik barviv (Disperse blue 373, Disperse Orange 37 a Disperse Violet 93) a mimo jiné i BNZD, a to v koncentraci až 47 µg L⁻¹. BNZD je prokázaný karcinogen, který může vznikat právě i v procesu čištění odpadní vody. Jeho výskyt jsme zaznamenali i na odtoku z ČOV v Modřicích se střední koncentrací 87 ng L⁻¹ a maximální koncentrací 163 ng L⁻¹.

Na základě výše zmíněných dat je pravděpodobné, že odtok z ČOV v Modřicích vykazuje také mutagenní aktivitu. Jako nejproblémovější může být BNZD, který pravděpodobně vzniká v procesu čištění odpadní vody a je dále vypouštěn do povrchových vod. Rizikové mohou být i koncentrace ANI, který je označen jako pravděpodobný karcinogen (skupina 2A), vyskytující se také na odtoku. V tomto případě však pozorujeme mnohem vyšší účinnost odstranění, která je dále diskutována v kapitole 8.1.3. Dle výsledků ze studie Muz et al. (2017) se také můžeme domnívat, že za přítomnosti detekovaného 26XYL, OTLD a NORH a 5CARB dochází k synergickému efektu a mutagenní účinky se tak zvyšují. Ve zmíněné studii však nebyly detekovány i další AAs, přítomné v odpadní vodě v ČOV v Modřicích a lze tedy předpokládat, že mutagenní aktivita bude kvůli přítomnosti směsi 27 AAs na odtoku ještě vyšší. Avšak tento vyšší počet detekovaných AAs je ovlivněn tím, že jejich vzorkování probíhalo na odtoku z ČOV.

8.1.2 Vzorkovací rychlosti získané z terénního experimentu

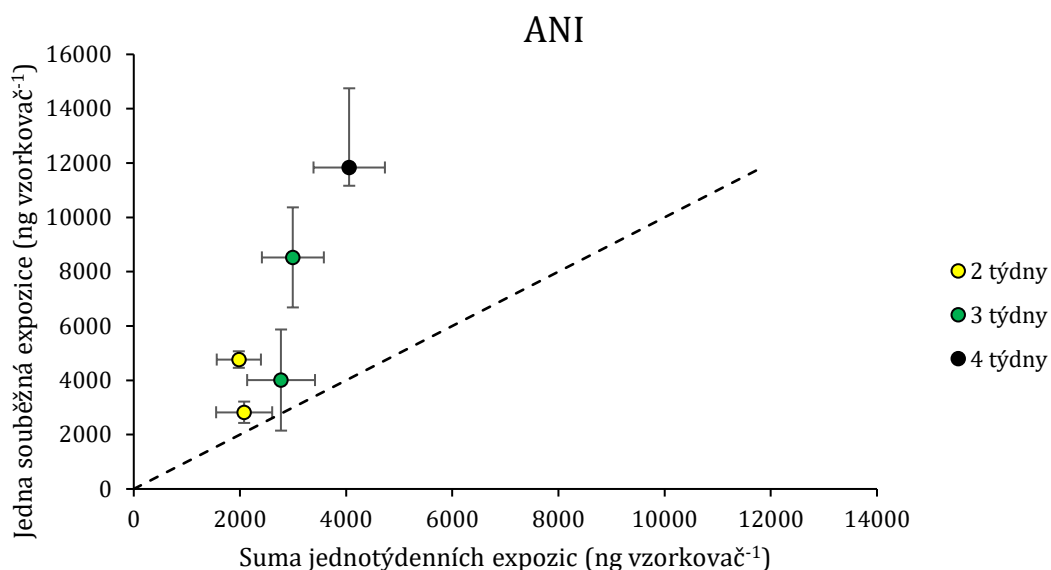
Pro výpočet vzorkovacích rychlostí z terénního experimentu musela vstupní data splňovat několik podmínek. Pro vzorky vody byl vypočítán koeficient kovariance pro zjištění variability dat napříč koncentracemi po celou dobu vzorkování na přítoku a na odtoku. Látky, pro které byl koeficient kovariance vyšší jak 40 %, nebyly zařazeny do výpočtu vzorkovacích rychlostí. Dále bylo zapotřebí vyhodnotit integrativitu vzorkování pro jednotlivé látky a typy vzorkovačů, tedy po jakou dobu expozice vzorkovače vzorkovaly integrativně a nárůst množství látky zachycené vzorkovačem byl lineární. To bylo hodnoceno poměrem množství zachyceného ve dvoutýdenní expozici a sumou množství zachyceném ve dvou příslušných jednotýdenních expozicích, dále obdobně poměrem třítýdenní expozice a sumou tří jednotýdenních expozic, a poměrem čtyřtýdenní expozice a sumou čtyř jednotýdenních expozic. Výsledné poměry byly převedeny na procenta. Pokud bylo číslo v rozmezí 75–125 %, považovalo se vzorkování v tomto období za integrativní. Pokud jakákoliv hodnota spadala mimo toto rozmezí, vzorkování se považovalo za neintegrativní. Avšak v případě, že tří či čtyřtýdenní expozice vyšly jako integrativní, bylo předpokládáno, že dvoutýdenní expozice probíhaly také v integrativním režimu, i když tomu tak neodpovídaly výpočty. Tato diskrepance mohla být způsobená zvýšenou mírou nejistoty v jedno- a dvoutýdenních expozicích, obzvláště při nízkých koncentracích či naopak koncentrací, které byly nad rozsahem kalibrace při analytickém zpracování. Schéma hodnocení dat je zobrazeno na obrázku (Obrázek 32).



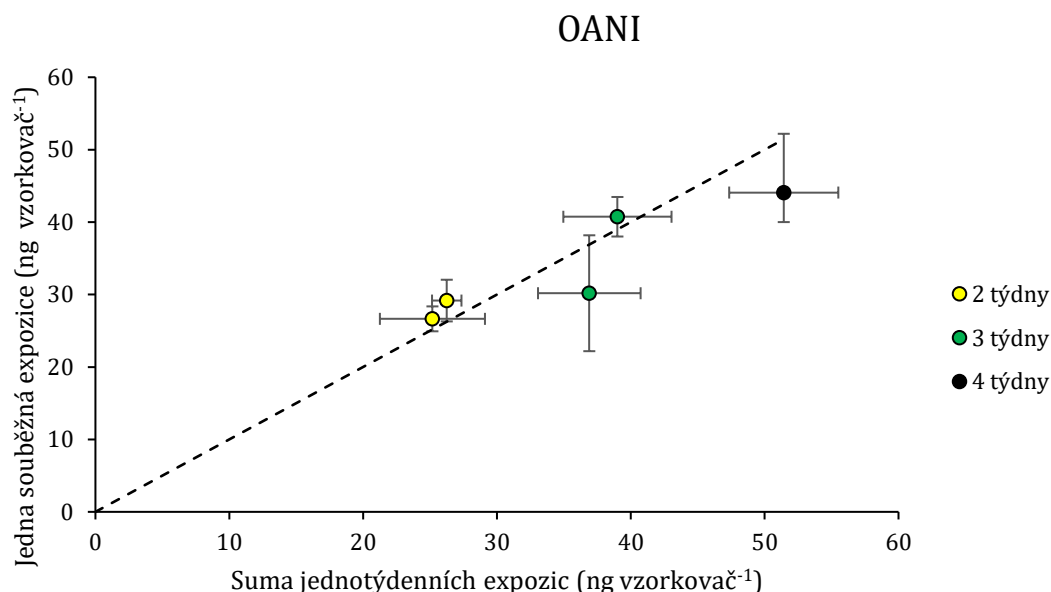
Obrázek 32: Schéma hodnocení dat pro výpočet vzorkovacích rychlostí

Na grafech (Obrázek 33;Obrázek 34) můžeme vidět rozdílné výsledky testu integrativity, kde jsou vyneseny výsledky pro HPS vzorkovač. V případě ANI na grafu

(Obrázek 33) vidíme, že vzorkovač tuto konkrétní látku nevzorkoval integrativně v žádném časovém období delším než týden. Suma množství z jednotýdenních expozic by měla zhruba odpovídat množství z příslušné jedné souběžné expozici. U ANI jsou však koncentrace ze souběžných expozic mnohokrát vyšší. Naopak na příkladu OANI vidíme, že suma množství zachyceného během jednotýdenních expozic a množství získané během jedné souběžné expozice se téměř shodují. Proto tato látka byla pravděpodobně vzorkována integrativně po celý časový úsek expozice 28 dní.



Obrázek 33: Vyhodnocení integrativnosti vzorkování ANI kdy příjem této látky do vzorkovače HPS nebyl integrativní za žádnou časovou dobu delší než týden



Obrázek 34: Vyhodnocení integrativnosti vzorkování OANI, kdy byl příjem látky vzorkovačem HPS integrativní za celé čtyři týdny

Pro všechny látky, které byly vzorkovány daným vzorkovačem integrativně, mohly být vyhodnocené vzorkovací rychlosti. Za předpokladu, že koncentrace ve vodě c_w byla konstantní, se vzorkovací rychlost vypočítala dle rovnice:

$$R_s = \frac{N_s}{c_w t} \quad (10)$$

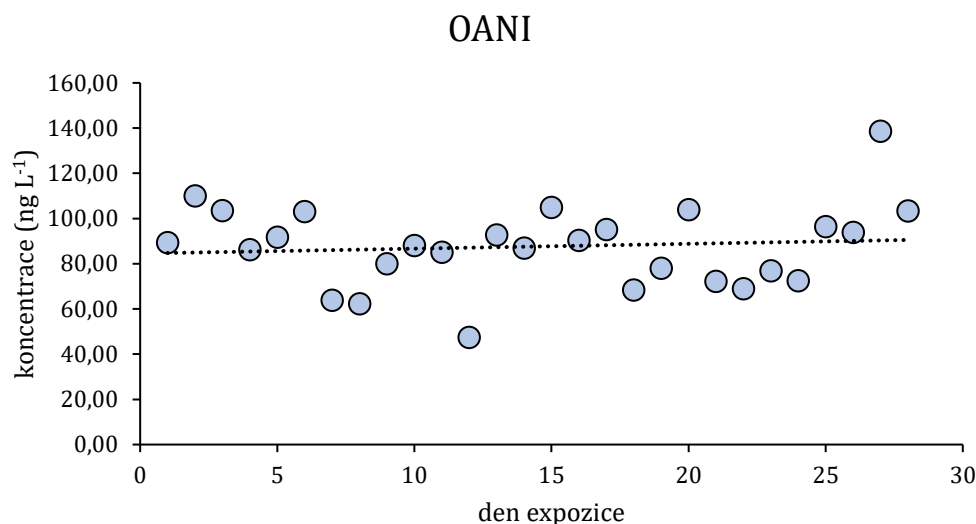
Kde c_w (ng mL⁻¹) je průměrná koncentrace analytů ve vzorcích vody za celých 28 dní a N_s (ng) je množství látky zachycené vzorkovačem v čase t (den). Člen N_s/t (ng den⁻¹) je směrnici lineární závislosti N_s na t . V případě, že měla koncentrace ve vodě lineární stoupající nebo klesající trend, byl časový průběh vodní koncentrace popsán parametry lineární závislosti koncentrace na čase:

$$c_w = c_{w0} + c' t \quad (11)$$

Kde c_{w0} je koncentrace ve vodě v čase $t = 0$ a c' (ng mL⁻¹ den⁻¹) je směrnice závislosti. Klesající či stoupající trend u vzorků vody byl zjištěn jednovýběrovým t-testem směrnice lineární regrese výše uvedené (11). V případě, že byla směrnice na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ signifikantně odlišná od nuly, byla koncentrace ve vodě považována za rostoucí či klesající v čase. V takovém případě byla pro výpočet vzorkovací rychlosti použita rovnice dle Booij et al. (2003):

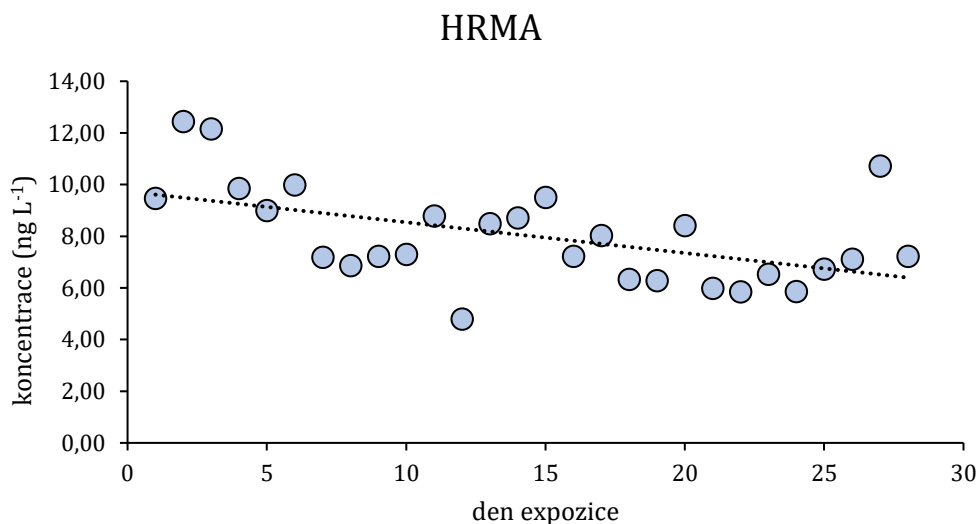
$$R_s = \frac{N_s}{\left(c_{w0} + \frac{c't}{2}\right)t} \quad (12)$$

T-test byl proveden pro všechny časové expozice delší než jeden týden, tedy pro obě dvoutýdenní, tří týdenní a jednu čtyřtýdenní. Na grafu (Obrázek 35) můžeme vidět téměř konstantní koncentrace OANI na přítoku ve vzorcích vody po dobu 28 dní. Tato látka neměla klesající ani stoupající trend po celou dobu expozice.



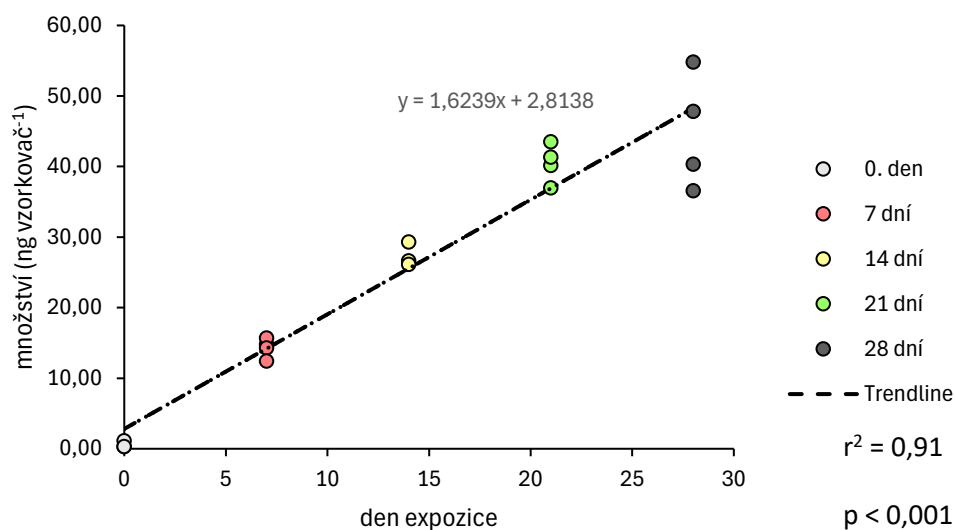
Obrázek 35: Graf OANI znázorňující téměř konstantní koncentrace na odtoku po dobu 28 dní

Naproti tomu na grafu HRMA (Obrázek 36) vidíme odlišný scénář. Koncentrace HRMA s časem klesají, tedy pro tuto látku bylo zapotřebí přepočítat vzorkovací rychlosti podle výše zmíněné rovnice, jelikož koncentrace ve vodě mají klesající trend.

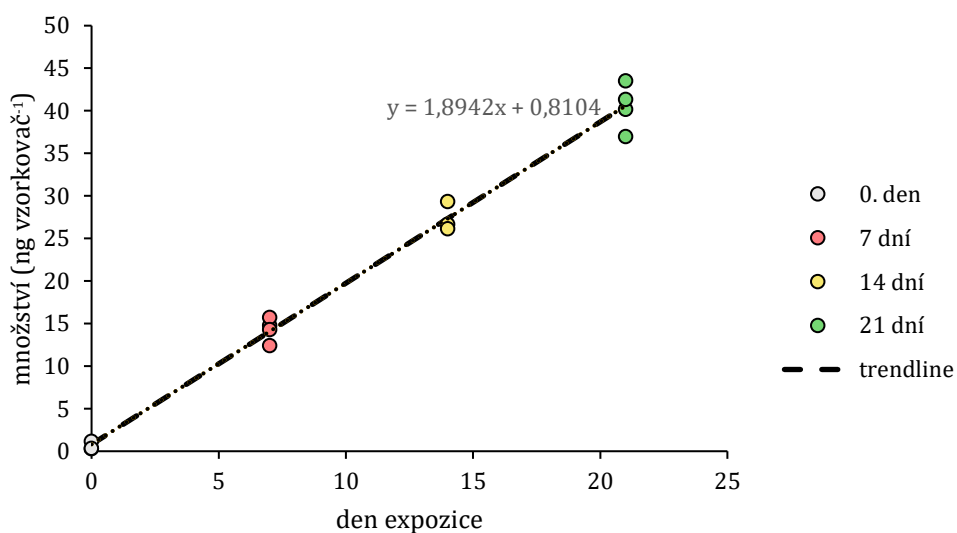


Obrázek 36: Klesající trend koncentrací HRMA ve vzorcích vody po dobu 28 dní

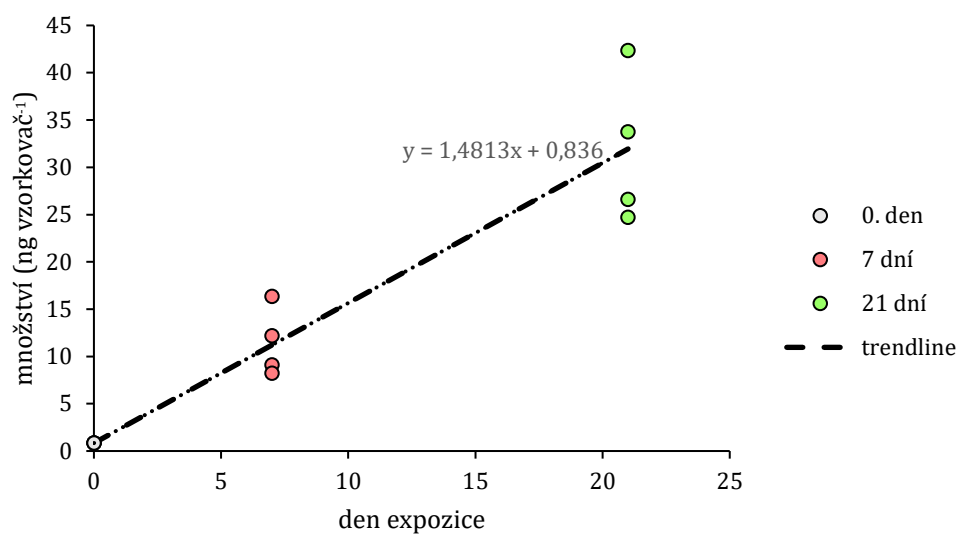
Vzorkovací rychlosti mohly být vyhodnoceny celkem pro šest látek na přítoku a pro pět látek na odtoku (Tabulka 7). V případě HPS vzorkovače byl do vyhodnocení přidán ještě CUMI, který byl sice detekován ve vodě, ale ve vzorkovačích s výjimkou HPS nikoliv. Vyhodnocení vzorkovací rychlosti pro 24DAT bylo přidáno ke vzorkovači AD, jelikož byl detekován pouze tímto vzorkovačem na přítoku. Výsledky jsou rozdělené dle časových expozic – dvě dvoutýdenní (V1_V3; V3_V5), dvě třítýdenní (V1_V4; V2_V5) a jedna čtyřtýdenní (V1_V5). Příklady lineárních regresí, které bylo potřeba zhotovit pro výpočet vzorkovacích rychlostí jsou ukázány na množství OANI v HPS na odtoku (Obrázek 37), (Obrázek 38), (Obrázek 39), (Obrázek 40), (Obrázek 41). Při vyhodnocování lineárních regresí u HPS byla odstraněna hodnota disku z přítoku z dvoutýdenní expozice (konkrétně V1_V3_2), jelikož tento vzorkovač přišel během expozice o gel. U odtoku byla také vyřazena hodnota disku dvoutýdenní expozice (V3_V5_4) ze stejného důvodu a jedna třítýdenní (V1_V4_4), jelikož byla pro všechny sledované látky velmi nízká. Pravděpodobně jde o chybu při laboratorním zpracování, kdy mohlo dojít k odpaření větší části extraktu.



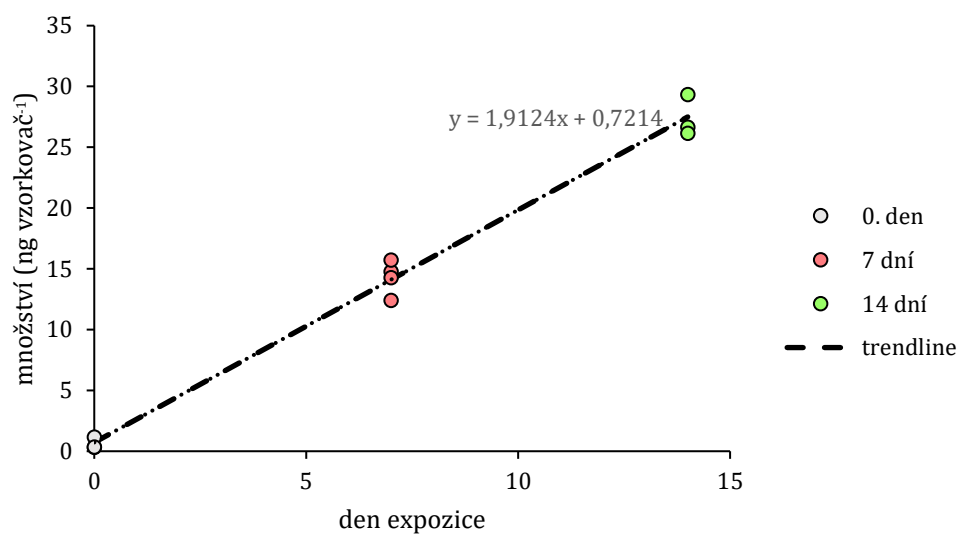
Obrázek 37: Graf lineární regrese OANI pro čtyřtýdenní expozici (V1_V5)



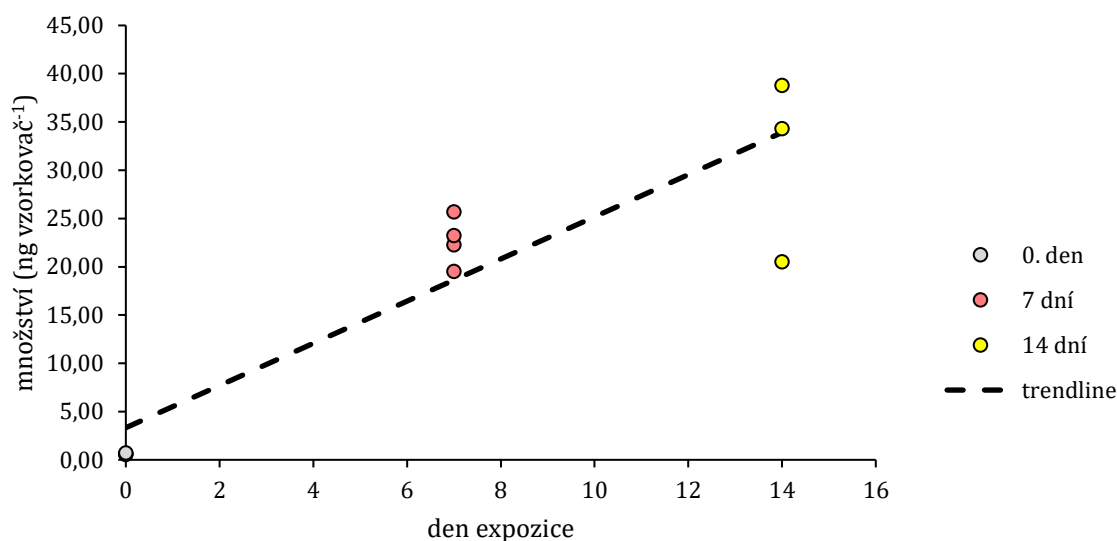
Obrázek 38: Graf lineární regrese OANI pro dřívější třítýdenní expozici (V1_V4)



Obrázek 39: Graf lineární regrese OANI pro pozdější třítýdenní expozici (V2_V5)



Obrázek 40: Graf lineární regrese OANI pro dřívější dvoutýdenní expozici (V1_V3)



Obrázek 41: Graf lineární regrese OANI pro pozdější dvoutýdenní expozici (V3_V5)

Po aplikaci kritéria integrativity vzorkování byla na přítoku vzorkovací rychlost pro speedisk vyhodnocena celkem pro pět látek, jelikož ZAPY nebyl integrativní v žádném časovém období. Vzorkovací rychlost pro všechny časové úseky bylo možné vyhodnotit pouze pro OANI. Na odtoku vzorkovač vzorkoval integrativně po celou dobu látky BNZD a HRMA. Jak lze vidět, ze speedisku bylo možné získat více dat na odtoku, tedy zdá se, že jeho integrativní příjem látek byl více ovlivněn na přítoku.

V případě AD bylo možné detekovat všechny látky na přítoku, avšak více jak polovina vzorkovacích rychlostí nemohla být vyhodnocena, jelikož nesplňovaly kritérium integrativnosti. Jediná látka, pro kterou bylo možné vyhodnotit vzorkovací rychlosti ve všech časových úsecích, byl CYHA, avšak R_s dvoutýdenní expozice vyšly velmi vysoké. Na odtoku nebylo možné vyhodnotit R_s ani pro jedno časové období pro HRMA, tedy vyhodnoceny byly pouze čtyři látky. Srovnáme-li použití vzorkovače AD na přítoku a na odtoku, je patrné, že je více ovlivněn podmínkami na přítoku, jako je komplexnější matrice, jiné chemické složení, pH, což vede ke snížení četnosti integrativního vzorkování a celkové spolehlivosti vzorkovače v této matrici. Citlivost na podmínky na přítoku můžeme vidět také na konkrétních hodnotách vzorkovacích rychlostí, kdy sledujeme určitý trend – vzorkovací rychlosti látek na odtoku jsou téměř vždy vyšší a v případě OANI až dvakrát vyšší. Podobný efekt sledujeme i u speedisku, který je také více ovlivněn podmínkami na přítoku, zatímco na odtoku je více spolehlivý. U HPS vidíme téměř podobné výsledky na přítoku i na odtoku. Zde bylo možné vyhodnotit vzorkovací rychlosti pro všechny látky kromě anilinu. Kromě této látky vzorkovač vzorkoval integrativně ve všech třítydenních expozicích, s výjimkou CUMI, který však byl detekován pouze tímto vzorkovačem. Dále lze také pozorovat nejmenší rozdíly ve

vzorkovacích rychlostech napříč látkami na odtoku a na přítoku. V obou maticích se vyskytoval OANI, HRMA a NORH, přičemž pro OANI jsou R_s téměř shodné.

Z těchto dat lze usuzovat, že z hlediska testu integrativity je HPS vzorkovač nejspolehlivější. Jiné pozorování bylo dosaženo ve studii Fialová et al. (2024), kde testovali tři vzorkovače – POCIS, HPS a speedisk pro vzorkování perfluorovaných látek, léčiv a pesticidů na odtoku z ČOV v Modřicích. Zde byl naopak speedisk vyhodnocen jako nejspolehlivější z hlediska integrativního vzorkování v delším časovém období.

Tabulka 7: Přehled výsledků vzorkovacích rychlostí, NI značí neintegrativní vzorkování

speedisk_PŘÍTOK					
	V1_V3	V3_V5	V1_V4	V2_V5	V1_V5
Látka	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$
2APY	NI	NI	NI	NI	NI
OANI	26 ± 3	58 ± 13	19 ± 2	19 ± 2	16 ± 1
ANI	$391 \pm 62^*$	$267 \pm 33^*$	$302 \pm 32^*$	$233 \pm 33^*$	NI
CYHA	$166 \pm 16^*$	$146 \pm 23^*$	NI	NI	NI
HRMA	18 ± 3	12 ± 2	NI	NI	NI
NORH	25 ± 2	13 ± 2	20 ± 2	14 ± 1	NI
speedisk_ODTOK					
	V1_V3	V3_V5	V1_V4	V2_V5	V1_V5
Látka	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$
BNZD	31 ± 4	57 ± 7	27 ± 3	54 ± 7	31 ± 3
OANI	48 ± 3	60 ± 5	39 ± 3	41 ± 3	NI
4CHA	236 ± 39	251 ± 29	216 ± 25	192 ± 79	NI
HRMA	20 ± 1	33 ± 3	18 ± 1	32 ± 2	23 ± 1
NORH	5 ± 2	8 ± 1	9 ± 2	7 ± 1	NI
HPS_PŘÍTOK					
	V1_V3	V3_V5	V1_V4	V2_V5	V1_V5
Látka	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$
2APY	93 ± 11	100 ± 10	94 ± 7	72 ± 7	NI
OANI	24 ± 2	27 ± 2	24 ± 2	19 ± 2	21 ± 1
ANI	NI	NI	NI	NI	NI
CYHA	$116 \pm 9^*$	$102 \pm 12^*$	$106 \pm 11^*$	$55 \pm 11^*$	NI
HRMA	13 ± 2	18 ± 2	14 ± 1	10 ± 1	NI
NORH	16 ± 1	20 ± 2	18 ± 2	12 ± 1	13 ± 1
HPS_ODTOK					
	V1_V3	V3_V5	V1_V4	V2_V5	V1_V5
Látka	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$	$R_s \pm SE$
BNZD	16 ± 3	13 ± 3	23 ± 3	30 ± 4	NI
OANI	23 ± 2	24 ± 2	28 ± 2	29 ± 2	28 ± 1

4CHA	142 ± 20	159 ± 21	99 ± 11	176 ± 88	NI
HRMA	11 ± 2	33 ± 5	19 ± 2	55 ± 4	21 ± 1
NORH	5 ± 2	6 ± 1	9 ± 2	10 ± 1	NI
CUMI	21 ± 3	21 ± 3	NI	NI	NI
AD_PŘÍTOK					
	V1_V3	V3_V5	V1_V4	V2_V5	V1_V5
Látka	Rs ± SE	Rs ± SE	Rs ± SE	Rs ± SE	Rs ± SE
2APY	419 ± 52	163 ± 15	NI	NI	NI
24DAT	78 ± 9	31 ± 3	NI	NI	NI
OANI	35 ± 3	34 ± 3	NI	NI	NI
ANI	1853 ± 296*	303 ± 37*	NI	NI	NI
CYHA	426 ± 43*	166 ± 21*	301 ± 55*	154 ± 24*	296 ± 53*
HRMA	24 ± 3	21 ± 2	NI	NI	NI
NORH	36 ± 2	28 ± 3	NI	NI	NI
AD_ODTOK					
	V1_V3	V3_V5	V1_V4	V2_V5	V1_V5
Látka	Rs ± SE	Rs ± SE	Rs ± SE	Rs ± SE	Rs ± SE
BNZD	66 ± 8	70 ± 9	60 ± 6	75 ± 9	55 ± 5
OANI	77 ± 5	69 ± 5	NI	NI	NI
4CHA	472 ± 68	376 ± 38	376 ± 37	525 ± 219	359 ± 40
HRMA	32 ± 1	39 ± 3	35 ± 1	39 ± 2	36 ± 1
NORH	NI	NI	NI	NI	NI

* hodnoty se považují za semikvantitativní v důsledku přesáhnutí kalibrační meze

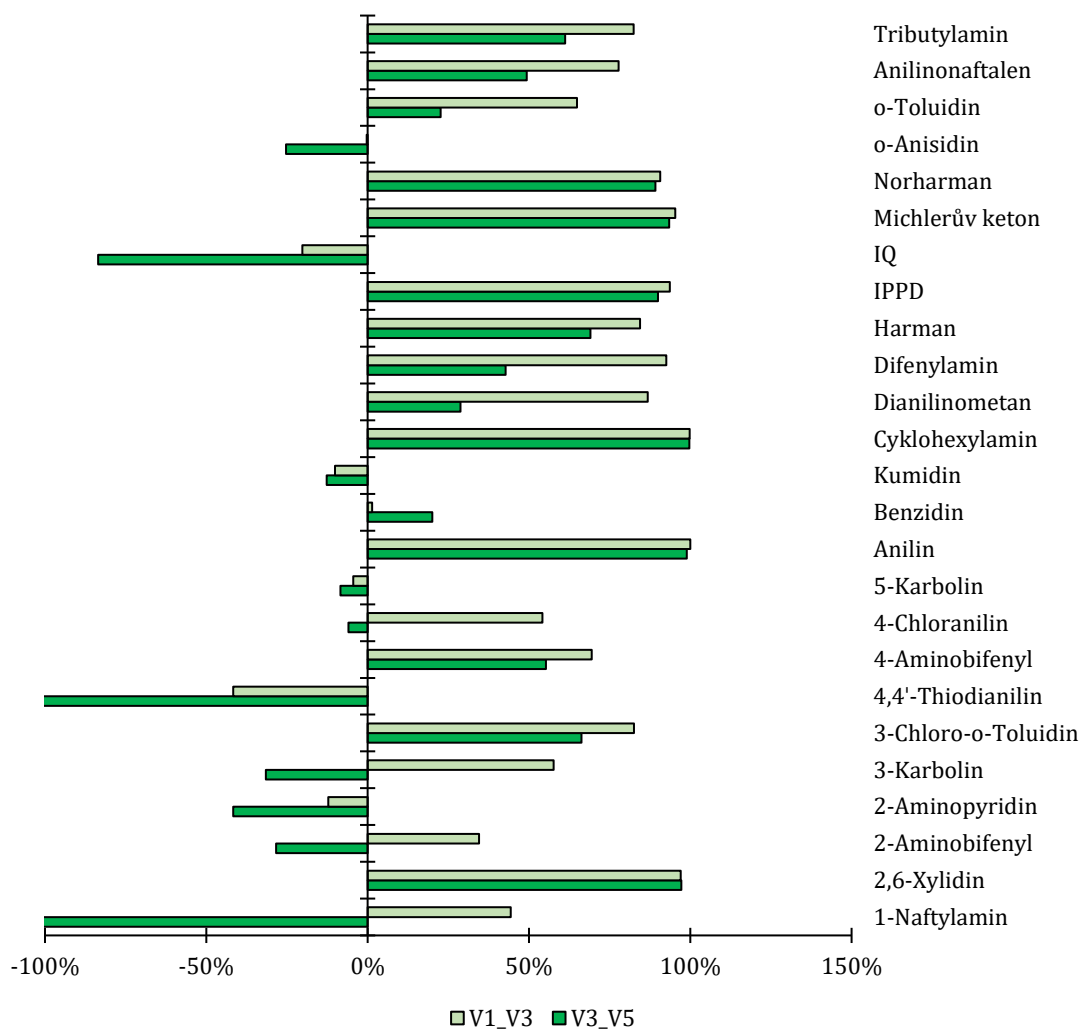
8.1.3 Účinnost ČOV v odstranění aromatických aminů

Z dat koncentrací na přítoku a na odtoku mohla být vypočítána i účinnost odstranění (RE, z angl. removal efficiency) aromatických aminů v procesu čištění vody čistírnou odpadních vod v Modřicích. Výpočet byl proveden dle vztahu:

$$RE = \frac{c_{IN} - c_{EF}}{c_{IN}} \times 100 \% \quad (13)$$

Kde c_{IN} (ng L⁻¹ pro data vzorků vody, ng vzorkovač⁻¹ pro data ze vzorkovače) značí koncentraci na přítoku a c_{EF} koncentraci na odtoku z čistírny. Pro výpočet byly použity výsledky koncentrací jak ze vzorků vody, tak ze vzorkovače HPS. U dat z HPS bylo použito množství ve vzorkovači, kdy předpokládáme podobné vzorkovací rychlosti na přítoku i na odtoku. Pro větší přesnost byly dosazeny koncentrace z dvoutýdenních expozic, kdy se domníváme, že příjem látek probíhá integrativně. Z dat koncentrací z HPS vzorkovače bylo možné vyhodnotit účinnost odstranění pro 25 látek (Obrázek 42). Pokud daná látka nebyla detekována na přítoku, respektive na odtoku, byla nahrazena polovinou LOQ. V případě záporného výsledku se jedná o neúčinné odstranění konkrétní

látky v procesu čištění vody. U HPS v obou časových úsecích se jedná o šest látek, konkrétně o OANI, IQ, CUMI, 5CARB, 44TDA a 2PY. Pokud uvažujeme pouze časový úsek 14-28 dní (tmavě zelená), záporný výsledek vychází u dalších látek jako je 4CHA, 3CARB, 2AMB a 1NAPA. Tyto čtyři látky však mají lepší procento odstranění v dřívější expozici 0-14 dní (světle zelená). Naopak téměř 100% odstranění mají látky jako NORH, MICHK, CYHA, ANI a 26XYL. Celkově mělo po celou dobu experimentu alespoň částečnou účinnost odstranění 15 látek.

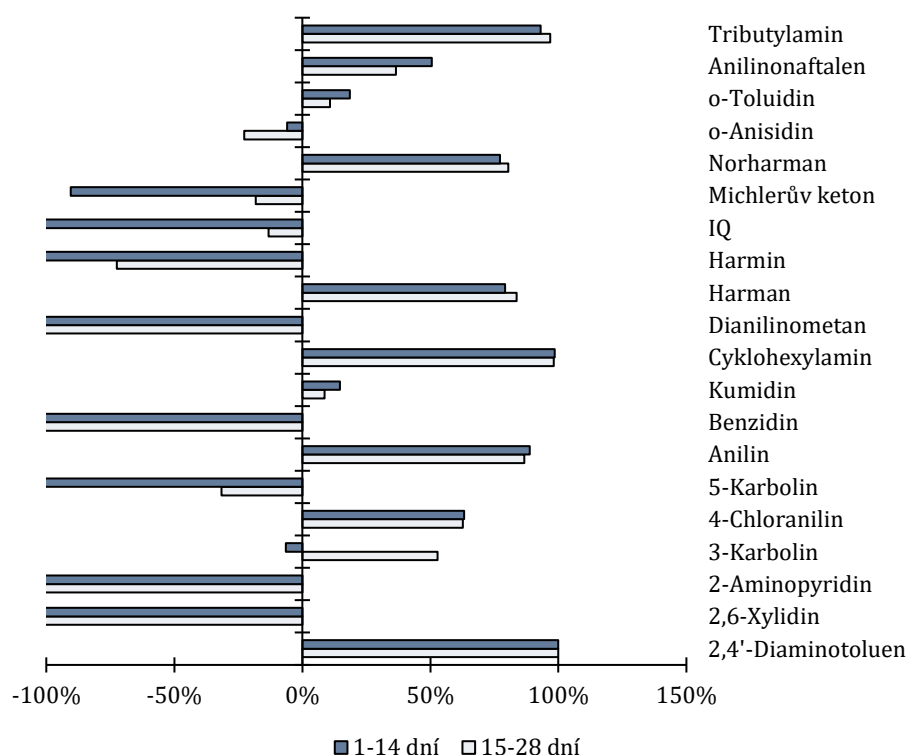


Obrázek 42: Účinnost odstranění vypočítána z dat pro HPS

V případě koncentrací ze vzorků vody bylo možné vyhodnotit RE celkem pro 20 aromatických aminů (Obrázek 43). Výsledky ukazují, že nedostatečně bylo odstraněno osm látek, a to v celém časovém úseku 28 dní, jmenovitě MICHK, HRMA, 5CARB, IQ, 26XYL, OANI, BNZD, DADPM a 2APY. Dále 3CARB, který má záporný výsledek v prvních

14 dnech, avšak ve druhé půlce vychází již úspěšnější odstranění 53 %. Téměř 100% úspěšnost pak mají konkrétně TBA, NORH, CYHA, ANI a 24DAT. Látek, které byly alespoň částečně odstraněny, je celkem deset.

Porovnáme-li výsledky ze vzorků vody a z HPS vzorkovače, vidíme, že téměř 100% účinnost se shoduje pro CYHA, NORH a ANI. Naopak neúspěšné odstranění se shoduje v obou postupech pro OANI, IQ a 2APY. Naprosto odlišné výsledky můžeme sledovat u 26XYL a MICHK, kdy tyto dvě látky jsou vyhodnoceny jako neúspěšně odstraněné v případě dat z vody, ale naopak úspěšně odstraněné v případě dat z HPS. Koncentrace MICHK jsou velmi nízké v obou postupech, tedy je zde možné větší zatížení chybou například při instrumentální analýze. Pro 26XYL jsou koncentrace vyšší, negativní RE je zde vyšší jak 1000 % avšak nelze s jistotou říci, jestli došlo k úspěšnému odstranění či nikoliv. Další zajímavou látkou je BNZD, potvrzený karcinogen, který v případě dat z HPS má účinnost odstranění 1 % v prvních 14 dnech a 20 % ve zbylých 14 dnech, zatímco u dat ze vzorků vody je účinnost odstranění nižší než -250 % pro oba časové úseky. Jak již bylo zmíněno v teoretické části této práce, BNZD může vznikat degradací různých barviv, která jsou na jeho bázi. Je proto možné, že jeho výskyt i na odtoku může být z části i v důsledku tohoto jevu.



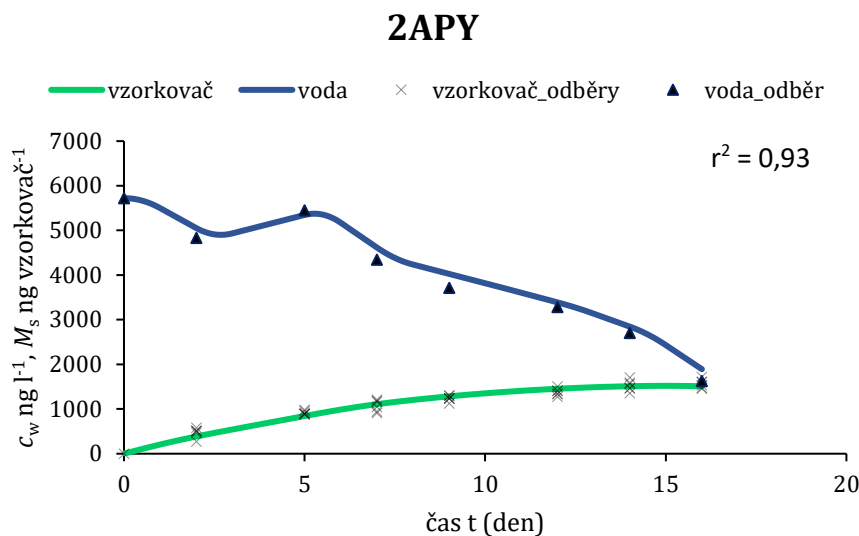
Obrázek 43: Účinnost odstranění vypočítána z dat ze vzorků vody

8.2 Výsledky z kalibračního experimentu

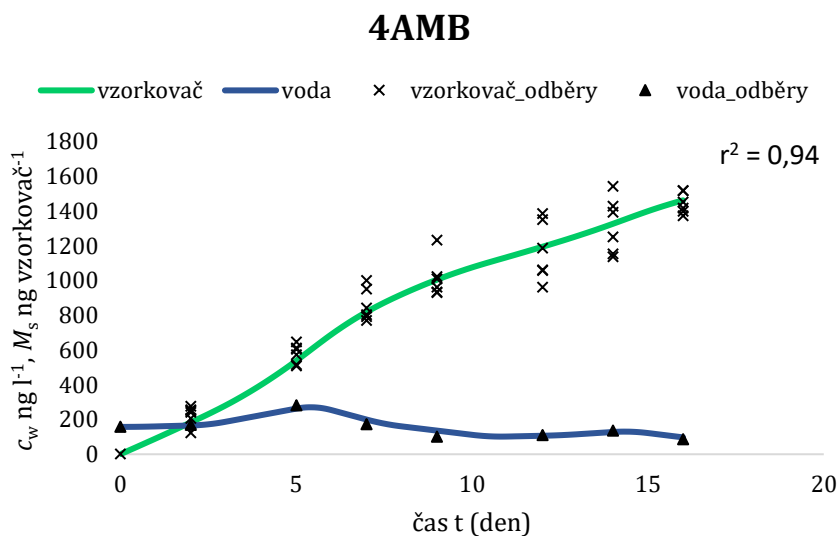
8.2.1 Získání vzorkovacích rychlostí z kalibračního experimentu

Vzorkovací rychlosti z kalibračního experimentu byly vyhodnoceny pomocí softwaru ModelMaker4 za použití modelu dle diferenciální rovnice (1) pro jejíž numerické řešení byla použita Runge-Kuttova metoda čtvrtého řádu. Byly použity dva způsoby vyhodnocení. V případě prvního způsobu jsou dosazeny dva optimalizované parametry – koeficient přenosu hmoty pro příjem látky k_1 , shodný s $R_s \text{ m s}^{-1}$, a koeficient přenosu hmoty pro uvolňování látky k_2 , shodný s $R_s K_{sw}^{-1} \text{ m s}^{-1}$. Pokud nebyla hodnota k_2 významně odlišná od nuly (t-test, $p > 0,05$), byl použit model pouze s jedním optimalizovaným parametrem. Jednalo se o látky BNZD, 44TDA, 2BRA, PAAZB, 5CARB a MBOCA. Tento případ nastává tehdy, když vzorkovač přijímá látky v integrativní fázi a uvolňování látek z něj je tedy zanedbatelné během celé expozice. Hodnoty parametrů byly s pomocí ModelMaker4 získány nelineární regresí s použitím Levenberg-Marquardtova algoritmu s váženou metodou nejmenších čtverců (Škodová et al., 2016).

Jak již bylo zmíněno výše, nejdříve se vzorky vody z akvária analyzovaly na kapalinové chromatografii pouze z přímého nástřiku vody, avšak dle následných výsledků bylo zřejmé, že tento postup nestačí, jelikož výsledné koncentrace byly příliš nízké. Vzorky vody bylo třeba zpracovat stejně jako v případě vzorků z ČOV. Výsledky vzorkovacích rychlostí pak ale byly pro většinu látek příliš vysoké a pro většinu látek nemohly odpovídat realitě. Rozdíly mezi hodnotami pro různé látky byly totiž v některých případech až ve třech řádech. Vzhledem k tomu, že difúzní vlastnosti zkoumaných látek jsou podobné (Krupčíková et al., 2023), řádové rozdíly poukazují na chybu. Ta spočívala v koncentracích ze vzorků vody, které byly zdrojem vysoké variability, zatímco množství látek ve vzorkovacích bylo pro všechny látky řádově podobné. Pro většinu látek byly tedy změřené koncentrace ve vodě podhodnocené, což vedlo k nadhodnocení vzorkovací rychlosti. To se týkalo jak případu zpracovaných vzorků vody, tak i vzorků pro přímý nástřik, zpracování vzorků tedy nemohlo být příčinou ztráty analytů. Hodnoty látek ve vzorkovacích však neukazují, že by k výrazné ztrátě látek došlo už v akváriu během prvních dnů experimentu. Z toho lze usuzovat, že ke ztrátě pravděpodobně došlo během uskladnění vzorků v polykarbonátových láhvích. Zajímavé bylo, že snížená koncentrace se nejevila u všech látek. Na grafu 2APY můžeme vidět ilustraci toho, jak by zhruba měl vypadat graf příjmu látek do vzorkovače a koncentrace ve vodě (Obrázek 44). U velké většiny látek však z neznámého důvodu ke ztrátě analytů ve vzorcích vody došlo, a proto většina grafů vypadala podobně jako například 4AMB (Obrázek 45).



Obrázek 44: Znázornění nárůstu koncentrace 2APY ve vzorkovači a koncentrace ve vodě



Obrázek 45: Graf nárůstu koncentrace 4AMB ve vzorkovači a klesající koncentrace ve vodě

O sorpci aromatických aminů na stěny skleněných vial, pokud byly uchované ve vodě v nízkém objemu, jsme již věděli, avšak tyto výsledky poukázali na to, že se značná část některých aromatických aminů může sorbovat i na stěny polykarbonátových vzorkovnic, ve kterých byly uchovány, anebo že v průběhu uskladnění docházelo k rozkladu či reakcím těchto látek. A to i přesto, že byly po celou dobu před zpracováním v laboratoři zmrazené při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Na základě této hypotézy byl proveden další experiment, který je popsán v následující kapitole.

Zároveň byl proveden výpočet vzorkovacích rychlostí pro optimální situaci s předpokladem, že koncentrace ve vodě byla nominální a nebyla podhodnocena. Pro výpočet byla zhotovena lineární regrese z koncentrací ve vzorkovači, avšak pouze pro prvních devět dní, kdy byl nárůst množství většiny látek ve vzorkovači lineární. Za koncentraci ve vodě byla dosazena hodnota $1 \mu\text{g L}^{-1}$, která odpovídá množství látek přidanému do akvária na začátku experimentu.

Pro porovnání byly vypočítány i teoretické hodnoty vzorkovacích rychlostí aromatických aminů pro hydrogelový vzorkovač dle vztahu:

$$R_s = \frac{DA}{\delta} \quad (14)$$

Kde D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) je příslušný látkově specifický difúzní koeficient, A je vzorkovací plocha (cm^2) a δ (cm) je tloušťka difúzní vrstvy hydrogelu. Difúzní koeficienty aromatických aminů pro hydrogelový vzorkovač byly získány ze studie Krupčíková et al. (2023). V tomto experimentu je však zahrnuta bariéra ve formě filtru ze skleněných vláken, která může přispívat k celkové rezistenci. I když bariérou kontrolující transport látek zůstává hydrogelová vrstva, výsledky teoretických vzorkovacích rychlostí mohou být nadhodnocené.

Výsledky vzorkovacích rychlostí teoretických, experimentálních a z jednotkových koncentrací jsou uvedeny v tabulce (Tabulka 8). Teoretické vycházejí v rozmezí $14\text{--}54 \text{ mL den}^{-1}$ se střední hodnotou 30 mL den^{-1} . Vzorkovacích rychlostí, kde byla upravena koncentrace vody na konstantní, vyšla R_s v rozmezí $34\text{--}185 \text{ mL den}^{-1}$ se střední hodnotou 80 mL den^{-1} . V rámci těchto dat byla vyloučena hodnota pro IPPD a ODAN, kde vzorkovací rychlost vycházela 0 a 2 mL den^{-1} , což poukazuje na odlehlé hodnoty z jiného důvodu. Výsledné vzorkovací rychlosti z dat z kalibračního experimentu jsou v rozmezí $34\text{--}890 \text{ mL den}^{-1}$ se střední hodnotou 185 mL den^{-1} . U látek 2APY, 5CARB, IQ, MEMDA a MICHK vycházejí R_s v rozmezí 0-100 dle očekávání, tedy u těchto látek nepředpokládáme významný úbytek ve vzorcích vody jako v případě ostatních. V porovnání se vzorkovacími rychlostmi z terénního experimentu vyšla nejpodobněji látka 4CHA, látky OANI, NORH a CUMI byly v kalibračním experimentu několikrát vyšší. Naopak vzorkovací rychlost pro 2APY byla v kalibračním experimentu nižší.

Tabulka 8: Přehled vzorkovacích rychlostí – teoretické dle výpočtu, experimentální a experimentální s jednotkovou koncentrací ve vodě

Látka	Teoretické	Jednotková c_w mL den ⁻¹	Experiment
1NAPA	38	47±3	
26XYL	27	56±2	
2A4NT	41	130±5	163±6
2AMB	34	110±6	127±2

Látka	Teoretické	Jednotková c_w	Experiment
	mL den ⁻¹		
2APY	53	134±3	37±2
2BRA	22	96±5	117±5
2NAPA	20	85±4	
33DCB	25	28±3	
33DMB	14	26±1	
3AAP	34	100±4	
3CHOT	39	124±6	168±7
3CARB	37	115±7	311±4
44TDA	21	13±2	891±51
4AMB	31	116±5	570±9
4CHA	37	113±5	156±6
4CHOT	36	152±6	185±7
5CARB	38	78±2	31±1
PAAZB	30	92±4	409±11
AZOB	54	66±4	
BNZD	16	48±3	400±9
CYHA	49	48±3	
DADPM	16	93±5	292±17
DPHA	42	49±4	113±9
HRMI	29	55±3	135±17
IPPD	28		
IQ	25	39±3	56±7
CUMI	38	94±6	234±11
MBOCA	24	59±4	167±4
MEMDA	16	54±4	230±5
MICHK	24	37±3	37±3
NORH	38	91±4	155±10
OAAT	27	35±3	
OANI	33	109±5	326±15
ODAN	16	2±0	
OTLD	25	112±5	292±15
PCRE	32	80±4	
TBA	28	32±4	

8.2.2 Experiment na sorpci/rozklad aromatických aminů

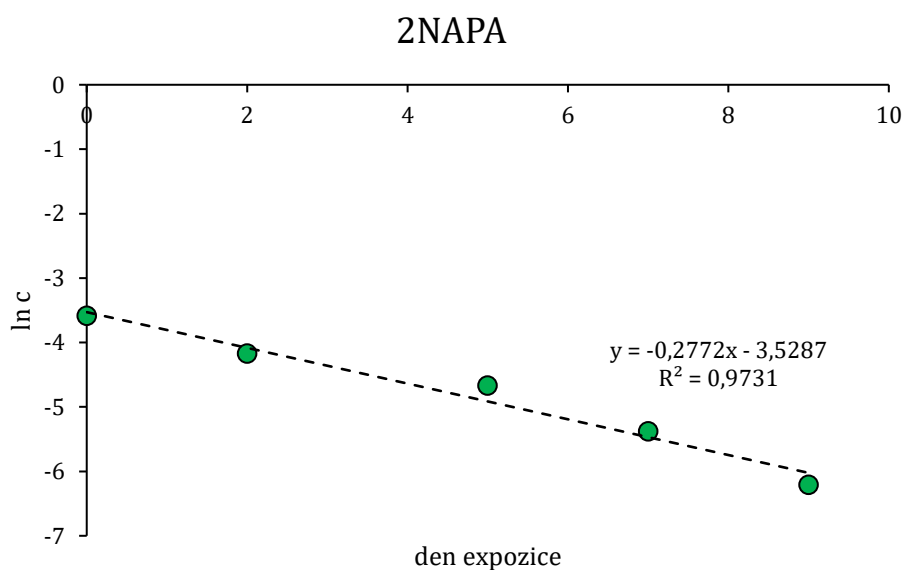
Pro otestování, jestli dochází ke ztrátě aromatických aminů, ať už sorpcí či rozkladem, byl zhotoven krátký experiment. Z výsledků tohoto experimentu bylo zřejmé, že se naše hypotéza potvrdila. Ztráta látek v čase byla pozorována téměř pro všechny látky, pro většinu se podle očekávání úbytek řídil kinetikou prvního řádu. Díky tomu bylo možné vypočítat i rychlostní konstantu úbytku dle rovnice:

$$\ln c = \ln c_0 - kt \quad (15)$$

Kde k (den^{-1}) je rychlostní konstanta prvního řádu, kterou získáme ze směrnice lineární regrese úbytku koncentrace za daný čas t . A následně lze prostřednictvím této konstanty vypočítat poločas života látky dle vztahu:

$$t_{0,5} = \frac{\ln 2}{k} \quad (16)$$

Grafické zpracování úbytku je zobrazeno na grafu 2NAPA (Obrázek 46)



Obrázek 46: Graf úbytku 2NAPA, pro který byl vypočítán poločas života 2,6 dní

Výsledné poločasy rozpadu jsou uvedené v tabulce (Tabulka 9). Otestováno bylo všech 37 aromatických aminů, které byly sledovány v kalibračním experimentu. Poločas rozpadu byl stanoven pro 30 látek. Z výsledků byl vyloučen CYHA a ODAN, které nebyly vůbec ve vzorcích detekované. Další látky, pro které nebyly vyhodnoceny poločasy života, se v tomto experimentu ukázaly jako stabilní, přičemž toto pozorování koreluje i s našimi výsledky kalibračního experimentu. Konkrétně se jedná o 2APY, IQ, 5CARB,

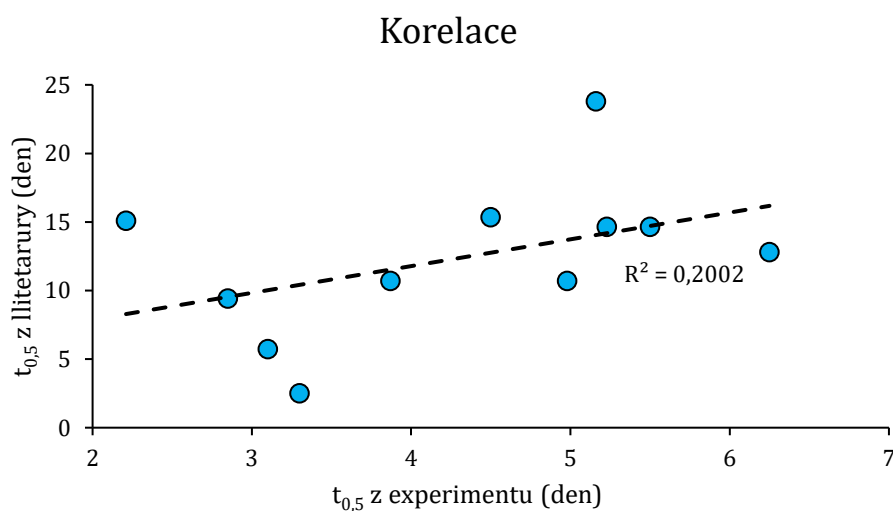
HRMI a TBA, přičemž poslední zmíněná látka nebyla v kalibračním experimentu vyhodnocena.

Tabulka 9: Přehled stanovených poločasů rozpadů aromatických aminů ve zmrazených vzorcích vody

zkratka	poločas rozpadu (den)
2APY	
DADPM	2,2
BNZD	1,3
OANI	4,8
PCRE	2,1
OTLD	6,6
ODAN	
MEMDA	2,5
33DMB	1,3
3AAP	5,4
4CHA	4,9
26XYL	5,2
44TDA	1,2
1NAPA	1,7
2NAPA	2,5
4CHOT	5,2
3CHOT	5,6
2A4NT	7,7
2BRA	4,8
2AMB	3,8
4AMB	2,8
PAAZB	3,3
MBOCA	3,1
33DCB	2,9
OAAT	2,7
IQ	
CUMI	3,4
5CARB	
AZOB	3,3
3CARB	8,6
CYHA	

zkratka	poločas rozpadu (den)
DPHA	2,7
HRMI	
MICHK	3,1
IPPD	1,9
NORH	20,9
TBA	

Jelikož při přípravě experimentu byla uvažována určitá ztráta těkavých aromatických aminů, byly pro vybrané látky vyhledány poločasy života v povrchových vodách (Chemspider, 2023). Tyto data se dala do korelace s experimentálně stanovenými daty celkově pro 11 látek (Obrázek 47). Pearsonův korelační koeficient měl hodnotu $r = 0,45$, tedy data vykazovala slabou až střední korelaci. I přesto jsou nalezené hodnoty obecně vyšší než změřené, což naznačuje, že spíše než o hydrolytický rozklad se jedná o sorpci nebo reakci jednotlivých látek během uskladnění.



Obrázek 47: Graf korelace poločasů života stanovených v této práci a poločasů života v povrchových vodách z literatury

9 Limitace

Praktická část této diplomové práce byla zaměřená na otestování tří typů vzorkovačů ve dvou typech matric – odpadní vodě a povrchové vodě. Výsledky měly posloužit jako přehled o obsahu 45 aromatických aminů v odpadních a povrchových vodách, přičemž měly být pro každou látku stanoveny vzorkovací rychlosti použitých vzorkovačů. Celkem byla detekována zhruba polovina AAs, což pomohlo objasnit jejich výskyt a osud v čistírně odpadních vod. Avšak množství použitelných výsledků velmi ovlivnila detekce menšího počtu látek ve vodě a testy integrativnosti, kdy mnoho dat muselo být vyloučeno v důsledku neintegrativního vzorkování. Z celkového počtu byla R_s vyhodnocena pouze pro sedm látek na přítoku a pět látek na odtoku. Pro obdržení vícero výsledků by bylo do budoucna lepší před zahájením komplexní vzorkovací kampaně s *in-situ* kalibrací udělat jednodušší screening ve formě bodového odběru vody a například necílené analýzy. Avšak pro vývoj takové metody je vyžadováno velké množství úsilí a času, přičemž v době, kdy se připravovala terénní kampaň, se podobné analytické metody pro stanovení aromatických aminů teprve vyvíjely. Některé výsledky mohou být také ovlivněny silnou vrstvou biofilmu či, v případě HPS vzorkovače, protržením předfiltru, což vede k expozici hydrogelové vrstvy (Obrázek 48).

Dalším limitem této práce jsou výsledky vzorkovacích rychlostí z kalibračního experimentu, které výrazně ovlivnilo nové zjištění, že aromatické aminy nejsou stále v polykarbonátových vzorkovnicích ani při zmrazení. Tento jev neočekáváme v takové míře u terénního experimentu, kde je mnohem komplexnější matrice a tedy přepokládáme, že AAs se spíše sorbují na částice přítomné ve vzorku vody. Látky z těchto částic se však mohou extrahovat zpátky do vzorku během SPE. Avšak pro některé látky vyšla vzorkovací rychlost velmi vysoká a v případě těchto látek je možné podhodnocení koncentrací ve vzorcích vody stejně jako v kalibračním experimentu. Na druhou stranu jde o cenný poznatek, který je nutno brát v potaz v dalším výzkumu aromatických aminů, a zároveň je podnětem pro další zkoumání jejich stálosti, rozkladu či sorpce v různých podmínkách.



Obrázek 48: Poškození vrstev vzorkovačů, vlevo vidíme protržení předfiltru, napravo naopak vrstvu biofilmu

10 Závěr

Teoretická část této práce se zaměřila na charakteristiku zkoumaných látek – aromatických aminů, které patří mezi všudypřítomné polutanty. V životním prostředí mohou vznikat přirozeně, ale v mnohem větší míře jsou produkovány člověkem. Jejich rozsáhlá produkce zapříčinila, že se nyní nacházejí ve všech maticích životního prostředí, ať už jde o půdu, ovzduší, vodu nebo třeba v mateřském mléce. Bohužel kromě užitečných vlastností, pro které je používáme, vykazuje mnoho z nich vlastnosti mutagenní a karcinogenní. O jejich karcinogenních účincích víme již od 19. století, a i přes různá omezení je stále detekujeme, což potvrdila i tato práce.

Hlavním cílem této práce bylo objasnit přítomnost aromatických aminů v povrchových vodách, v tomto případě na odtoku z čistírny odpadních vod, a v odpadních vodách, tedy na přítoku do čistírny. Čistírna odpadních vod zahrnuje několik komplexních procesů, díky kterým mnoho látek odstraňuje. Problémem je však skutečnost, že některé nejsou zcela nebo vůbec odstraněny či dokonce v průběhu čištění vody vznikají. Abychom věděli, jaké látky a v jakém množství se nacházejí kolem nás, musíme je umět detekovat, což mnohdy bývá velmi finančně náročné či téměř nemožné kvůli velmi nízkým koncentracím, ve kterých se nacházejí. Jedním ze způsobů, jak polutanty v životním prostředí zachytit, je metoda pasivního vzorkování, jež umožňuje zachytit stopové polutanty spolehlivě bez vyšších finančních nákladů. A jelikož rozpětí vlastností chemických látek, které životní prostředí znečišťují, je velké, musíme jim pasivní vzorkovače přizpůsobovat a neustále hledat nové inovativní metody.

Proto praktickou částí této práce bylo otestování tří typů pasivních vzorkovačů se sorbentem pro polární látky v terénní vzorkovací kampani. První vzorkovač byl speedisk, robustní vzorkovač, který se osvědčil pro vzorkování různých typů látek, například produktů osobní péče. Druhý vzorkovač byl založen na principu vzorkovače o-DGT, přičemž sorbentem je styrendivinylbenzen se sulfonátovou reverzní fází a difúzní vrstvou 1,5% agarózového hydrogelu posilněnou nylonovou sítkou. Tyto vrstvy byly chráněny filtrem ze skleněných vláken, která zamezuje degradaci vodní faunou a flórou. Třetí vzorkovač tvořil stejný sorbent, ale již bez difúzní hydrogelové vrstvy.

Terénní vzorkovací kampaň proběhla na přelomu listopadu a prosince a trval celkem 28 dní. Pro srovnání a případnou *in-situ* kalibraci byly zanalyzovány i kompozitní vzorky vody odebírané každý den po celou dobu expozice vzorkovačů. V terénním experimentu bylo detekováno celkem 30 látek, přičemž s výjimkou hydrogelového vzorkovače bylo vždy detekováno více aromatických aminů na odtoku z čistírny. Mezi látky, které byly vypouštěné, patřili prokázané karcinogeny (skupina 1) jako je BNZD, OTLD, MBOCA nebo pravděpodobně karcinogenní látky (skupina 2A) jako je OANI, 4CHA, IQ, či ANI, který byl detekován v kompozitních vzorcích vody na přítoku 1052 ng L^{-1} a na odtoku 122 ng L^{-1} . Byl pozorován i vznik některých sledovaných látek během procesu odstraňování, kdy některé AAs byly detekovány pouze na odtoku, jmenovitě MBOCA,

IQ, CUMI nebo BNZD s výjimkou HPS vzorkovače, který BNZD detekoval i na přítoku. V porovnání s literaturou je detekce tak velkého množství AAs jedinečná, jelikož právě tyto látky jsou velmi těžko detekovatelné zejména z hlediska instrumentální analýzy.

S cílem získat přesné vzorkovací rychlosti za kontrolovaných podmínek byla provedena laboratorní kalibrace. Z výsledků však bylo patrné, že došlo k neočekávané ztrátě látek, jelikož získané vzorkovací rychlosti byly řádově vyšší než očekávané hodnoty. Příčinou bylo podhodnocení koncentrace ve vzorcích vody. Vzešla tedy hypotéza, že aromatické aminy mohly podléhat rozkladu či se sorbovat na stěny polykarbonátových vzorkovnic během uskladnění, a to i přesto, že byly uchovány při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Navazující experiment se zmrazeným vodním roztokem aminů ve vzorkovnicích, ze kterých byly průběžně odebírány v čase, tuto hypotézu potvrdil. Medián poločasu života pro zkoumané aromatické aminy vypočtené podle kinetiky prvního řádu byl 3,2 dne, což značí, že tyto látky není možné ve vzorkovnicích skladovat ani při teplotě pod bodem mrazu.

I když při plnění cílů této práce vyvstalo několik neočekávaných překážek, které například zkomplikovali jednoznačné vyhodnocení vzorkovacích rychlostí, získané poznatky jsou přínosné pro objasnění přítomnosti aromatických aminů v povrchových a odpadních vodách a pro zlepšení postupů laboratorního zpracování jejich vzorků.

Použité zdroje

- Abe, F. R., Soares, A. M. V. M., Oliveira, D. P. de, & Gravato, C. (2018). Toxicity of dyes to zebrafish at the biochemical level: Cellular energy allocation and neurotoxicity. *Environmental Pollution*, 235, 255–262. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2017.12.020>
- Affinisep. (2023). *SPE Disks*. <https://www.affinisep.com/products/spe-disks/>
- Akyüz, M. (2007). Simultaneous determination of aliphatic and aromatic amines in indoor and outdoor air samples by gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, 71(1), 486–492. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2006.10.028>
- Akyüz, M., & Ata, Ş. (2006). Simultaneous determination of aliphatic and aromatic amines in water and sediment samples by ion-pair extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography. A*, 1129(1), 88–94. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2006.06.075>
- Alaejos, M. S., & Afonso, A. M. (2011). Factors That Affect the Content of Heterocyclic Aromatic Amines in Foods. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 10, Issue 2, pp. 52–108). <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00141.x>
- Alvarez, D. A. (2010). *Guidelines for the Use of the Semipermeable Membrane Device (SPMD) and the Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) in Environmental Monitoring Studies Techniques and Methods 1-D4*. <http://www.usgs.gov/pubprod>
- Alves de Lima, R. O., Bazo, A. P., Salvadori, D. M. F., Rech, C. M., de Palma Oliveira, D., & de Aragão Umbuzeiro, G. (2007). Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 626(1–2), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.08.002>
- Alzaga, R., Mesas, A., Ortiz, L., & Bayona, J. M. (1999). Characterization of organic compounds in soil and water affected by pyrite tailing spillage. *Science of The Total Environment*, 242(1–3), 167–178. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00382-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00382-4)
- Avantor. (2017). *Solid phase extraction products*.
- Averós, J. C., Llorens, J. P., & Uribe-Kaffure, R. (2020). Numerical Simulation of Non-Linear Models of Reaction—Diffusion for a DGT Sensor. *Algorithms*, 13(4), 98. <https://doi.org/10.3390/a13040098>
- Beland, F. A., Melchior, W. B., Mourato, L. L. G., Santos, M. A., & Marques, M. M. (1997). Arylamine-DNA adduct conformation in relation to mutagenesis. *Mutation Research*, 376(1–2), 13–19. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(97\)00020-1](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(97)00020-1)
- Beland, F. A., & Poirier, M. C. (1989). DNA Adducts and Carcinogenesis. *The Pathobiology of Neoplasia*, 57–80. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5523-6_4
- Beland, F., Cooper, C., & Grover, P. (1990). Chemical Carcinogenesis and Mutagenesis I. In C. S. Cooper & P. L. Grover (Eds.), *Handbook of Experimental Pharmacology*:

- Vol. 94 / 1. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-74775-5>
- Benigni, R., Giuliani, A., Franke, R., & Gruska, A. (2000). Quantitative structure-activity relationships of mutagenic and carcinogenic aromatic amines. *Chemical Reviews*, 100(10), 3697–3714. <https://doi.org/10.1021/cr9901079>
- Benigni, R., & Passerini, L. (2002). Carcinogenicity of the aromatic amines: from structure–activity relationships to mechanisms of action and risk assessment. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(3), 191–206. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(02\)00008-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(02)00008-X)
- Booij, K., Hofmans, H. E., Fischer, C. V., & Van Weerlee, E. M. (2003). Temperature-dependent uptake rates of nonpolar organic compounds by semipermeable membrane devices and low-density polyethylene membranes. *Environmental Science and Technology*, 37(2), 361–366. <https://doi.org/10.1021/es025739i>
- Booij, K., Vrana, B., & Huckins, J. N. (2007). *Chapter 7 Theory, modelling and calibration of passive samplers used in water monitoring* (pp. 141–169). [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(06\)48007-7](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(06)48007-7)
- Budavari, S. (1966). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*.
- Bueno, M. J. M., Gomez, M. J., Herrera, S., Hernando, M. D., Agüera, A., & Fernández-Alba, A. R. (2012). Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: two years pilot survey monitoring. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*, 164, 267–273. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2012.01.038>
- BVK. (2024). *Modernizace ČOV Modřice — Brněnské vodárny a kanalizace*. <https://www.bvk.cz/o-spolecnosti/modernizace-cov-modrice>
- Case, R. A. M., & Pearson, J. T. (1954). Tumours of the Urinary Bladder in Workmen Engaged in the Manufacture and Use of Certain Dyestuff Intermediates in the British Chemical Industry: Part II. Further Consideration of the Role of Aniline and the Manufacture of Auramine and Magenta (Fuchsine) as Possible Causative Agents. *Occupational and Environmental Medicine*, 11(3), 213–216. <https://doi.org/10.1136/OEM.11.3.213>
- Casero, I., Sicilia, D., Rubio, S., & Pérez-Bendito, D. (1997). Chemical degradation of aromatic amines by Fenton's reagent. *Water Research*, 31(8), 1985–1995. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00344-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00344-2)
- Cavallaro, A., Piangerelli, V., Nerini, F., Cavalli, S., & Reschiotto, C. (1995). Selective determination of aromatic amines in water samples by capillary zone electrophoresis and solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 709(2), 361–366. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00435-P](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00435-P)
- Charriau, A., Lissalde, S., Poulier, G., Mazzella, N., Buzier, R., & Guibaud, G. (2016). Overview of the Chemcatcher® for the passive sampling of various pollutants in aquatic environments Part A: Principles, calibration, preparation and analysis of the sampler. In *Talanta* (Vol. 148, pp. 556–571). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.064>

- Chemspider. (2023). *Chemspider*. <https://www.chemspider.com/Default.aspx>
- Chen, C. E., Zhang, H., & Jones, K. C. (2012). A novel passive water sampler for in situ sampling of antibiotics. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(6), 1523–1530. <https://doi.org/10.1039/c2em30091e>
- Chequer, F. M. D., Dorta, D. J., Oliveira, D. P. de, Chequer, F. M. D., Dorta, D. J., & Oliveira, D. P. de. (2011). Azo Dyes and Their Metabolites: Does the Discharge of the Azo Dye into Water Bodies Represent Human and Ecological Risks? *Advances in Treating Textile Effluent*. <https://doi.org/10.5772/19872>
- Chung, K. T. (2016). Azo dyes and human health: A review. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 34(4), 233–261. <https://doi.org/10.1080/10590501.2016.1236602>
- Chung, K. T., & Cerniglia, C. E. (1992). Mutagenicity of azo dyes: structure-activity relationships. *Mutation Research*, 277(3), 201–220. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(92\)90044-A](https://doi.org/10.1016/0165-1110(92)90044-A)
- Chung, K. T., Fulk, G. E., & Egan, M. (1978). Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(3), 558–562. <https://doi.org/10.1128/AEM.35.3.558-562.1978>
- Chung, K. T., Kirkovsky, L., Kirkovsky, A., & Purcell, W. P. (1997). Review of mutagenicity of monocyclic aromatic amines: quantitative structure-activity relationships. *Mutation Research*, 387(1), 1–16. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(97\)00019-7](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(97)00019-7)
- Chung, K.-T. (2015). 367 Occurrence, uses, and carcinogenicity of arylamines. In *Frontiers in Bioscience* (Vol. 7).
- Ciccoli, L., Ferrali, M., Rossi, V., Signorini, C., Alessandrini, C., & Comporti, M. (1999). Hemolytic drugs aniline and dapsone induce iron release in erythrocytes and increase the free iron pool in spleen and liver. *Toxicology Letters*, 110(1–2), 57–66. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00138-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00138-1)
- Combes, R. D., & Haveland-Smith, R. B. (1982). A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and other azo, triphenylmethane and xanthene dyes. *Mutation Research*, 98(2), 101–243. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(82\)90015-X](https://doi.org/10.1016/0165-1110(82)90015-X)
- Daughton, C. G., & Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*, 107 Suppl 6(Suppl 6), 907–938. <https://doi.org/10.1289/EHP.99107S6907>
- Davies, J. M. (1965). BLADDER TUMOURS IN THE ELECTRIC-CABLE INDUSTRY. *The Lancet*, 286(7404), 143–146. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(65\)90228-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(65)90228-X)
- De Aragão Umbuzeiro, G., Freeman, H. S., Warren, S. H., De Oliveira, D. P., Terao, Y., Watanabe, T., & Claxton, L. D. (2005). The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. *Chemosphere*, 60(1), 55–64. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2004.11.100>
- De Aragão Umbuzeiro, G., Roubicek, D. A., Rech, C. M., Sato, M. I. Z., & Claxton, L. D. (2004). Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures. *Chemosphere*, 54(11), 1589–1597. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.09.009>

- Djomte, V. T., Taylor, R. B., Chen, S., Booij, K., & Chambliss, C. K. (2018). Effects of hydrodynamic conditions and temperature on polar organic chemical integrative sampling rates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37(9), 2331–2339. <https://doi.org/10.1002/ETC.4225>
- Dobaradaran, S., Schmidt, T. C., Mutke, X. A. M., De-la-Torre, G. E., Telgheder, U., Kerpen, K., & Plonowski, M. (2023). Aromatic amines leachate from cigarette butts into aquatic environments: Is there risk for water organisms? *Environmental Research*, 216, 114717. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114717>
- Donaldson, F. P., & Nyman, M. C. (2006). Short-term interactions of aniline and benzdine with three soils in both natural and artificial matrices. *Chemosphere*, 65(5), 854–862. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2006.03.020>
- EEA. (2018). *European waters - assessment of status and pressures 2018*.
- Ellis, D. D., Jone, C. M., Larson, R. A., & Schaeffer, D. J. (1982). Organic constituents of mutagenic secondary effluents from wastewater treatment plants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 11(3), 373–382. <https://doi.org/10.1007/BF01055214>
- EPA. (2000). *Toluene-2, 4-Diamine*.
- Esancy, J. F., Freeman, H. S., & Claxton, L. D. (1990). The effect of alkoxy substituents on the mutagenicity of some phenylenediamine-based disazo dyes. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 238(1), 23–38. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(90\)90037-C](https://doi.org/10.1016/0165-1110(90)90037-C)
- ETAD. (2002). *Information on the 19th Amendment of the Restrictions on the Marketing and Use of certain azocolourants (Directive 2002/61/EC of the EP and of the EC of 19 July 2002)*.
- Evropská komise a Rada. (2000, October 23). *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy*. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2000/60/oj>
- Evropský Parlament a Rada (2006). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02006R1907-20231201>
- Fekete, A., Malik, A. K., Kumar, A., & Schmitt-Kopplin, P. (2010). Amines in the environment. In *Critical Reviews in Analytical Chemistry* (Vol. 40, Issue 2, pp. 102–121). <https://doi.org/10.1080/10408340903517495>
- Ferraz, E. R. A., Umbuzeiro, G. A., de-Almeida, G., Caloto-Oliveira, A., Chequer, F. M. D., Zanoni, M. V. B., Dorta, D. J., & Oliveira, D. P. (2011). Differential toxicity of Disperse Red 1 and Disperse Red 13 in the Ames test, HepG2 cytotoxicity assay, and Daphnia acute toxicity test. *Environmental Toxicology*, 26(5), 489–497. <https://doi.org/10.1002/TOX.20576>
- Fialová, P., Šverclová, K., Grabicová, K., Grabic, R., Švecová, H., Nováková, P., & Vrana, B. (2024). Performance comparison of three passive samplers for monitoring of polar organic contaminants in treated municipal wastewater. *Science of The Total Environment*, 908, 168153. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.168153>

- Flynn, G. L., & Yalkowsky, S. H. (1972). Correlation and prediction of mass transport across membranes. I. Influence of alkyl chain length on flux-determining properties of barrier and diffusant. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61(6), 838–852. <https://doi.org/10.1002/JPS.2600610603>
- Franciscon, E., Piubeli, F., Fantinatti-Garboggini, F., Ragagnin de Menezes, C., Serrano Silva, I., Cavaco-Paulo, A., Grossman, M. J., & Durrant, L. R. (2010). Polymerization study of the aromatic amines generated by the biodegradation of azo dyes using the laccase enzyme. *Enzyme and Microbial Technology*, 46(5), 360–365. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2009.12.014>
- Godlewska, K., Stepnowski, P., & Paszkiewicz, M. (2021). Pollutant analysis using passive samplers: principles, sorbents, calibration and applications. A review. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 19, Issue 1, pp. 465–520). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01079-6>
- Górecki, T., & Namienik, J. (2002). Passive sampling. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 21(4), 276–291. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00407-7](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00407-7)
- Greenwood, R., Mills, G. A., & Vrana, B. (2007). *Passive Sampling Techniques in Environmental Monitoring*.
- Guengerich, F. P. (2002). N-HYDROXYARYLAMINES. *Drug Metabolism Reviews*, 34(3), 607–623. <https://doi.org/10.1081/DMR-120005663>
- Hagen, D. F., Markell, C. G., Schmitt, G. A., & Blevins, D. D. (1990). Membrane approach to solid-phase extractions. *Analytica Chimica Acta*, 236(C), 157–164. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)83309-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)83309-7)
- Hammons, G. J., Guengerich, F. P., Weis, C. C., Beland, F. A., & Kadlubar, F. F. (1985). Metabolic oxidation of carcinogenic arylamines by rat, dog, and human hepatic microsomes and by purified flavin-containing and cytochrome P-450 monooxygenases. *Cancer Research*, 45(8), 3578–3585.
- Harman, C., Allan, I. J., & Vermeirssen, E. L. M. (2012). Calibration and use of the polar organic chemical integrative sampler-a critical review. In *Environmental Toxicology and Chemistry* (Vol. 31, Issue 12, pp. 2724–2738). <https://doi.org/10.1002/etc.2011>
- Hein, D. W. (1988). Acetylator genotype and arylamine-induced carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 948(1), 37–66. [https://doi.org/10.1016/0304-419X\(88\)90004-2](https://doi.org/10.1016/0304-419X(88)90004-2)
- Hidalgo, F. J., & Zamora, R. (2022). Carbonyl Chemistry and the Formation of Heterocyclic Aromatic Amines with the Structure of Aminoimidazoazaarene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(1), 79–86. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06842>
- Hildenbrand, S., Schmahl, F. W., Wodarz, R., Kimmel, R., & Dartsch, P. C. (1999). *Azo dyes and carcinogenic aromatic amines in cell cultures*.
- Huckins, J. N., Tubergen, M. W., & Manuweera, G. K. (1990). Semipermeable membrane devices containing model lipid: A new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration

- potential. *Chemosphere*, 20(5), 533–552. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(90\)90110-F](https://doi.org/10.1016/0045-6535(90)90110-F)
- IARC. (2010). *Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Aromatic Amines, Organic Dyes, and Related Exposures*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK385423/>
- IARC. (2023). *List of Classifications – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans*. <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>
- Jin, X. C., Liu, G. Q., Xu, Z. H., & Tao, W. Y. (2007). Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(1), 239–243. <https://doi.org/10.1007/S00253-006-0658-1>
- Jurado-Sánchez, B., Ballesteros, E., & Gallego, M. (2012). Occurrence of aromatic amines and N-nitrosamines in the different steps of a drinking water treatment plant. *Water Research*, 46(14), 4543–4555. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2012.05.039>
- Kadlubar, F. F., & Beland, F. A. (1985). *Polycyclic hydrocarbons and carcinogenesis*. American Chemical Society.
- Kadlubar, F. F., Miller, J. A., & Miller, E. C. (1978). Guanyl O6-arylation and O6-arylation of DNA by the carcinogen N-hydroxy-1-naphthylamine. *Cancer Research*, 38(11 Pt 1), 3628–3638.
- Kalyuzhnyi, S., Sklyar, V., Mosolova, T., Kucherenko, I., Russkova, J. A., & Degtyaryova, N. (2000). Methanogenic biodegradation of aromatic amines. *Water Science and Technology*, 42(5–6), 363–370. <https://doi.org/10.2166/WST.2000.0536>
- Kataoka, H., Hayatsu, T., Hietsch, G., Steinkellner, H., Nishioka, S., Narimatsu, S., Knasmüller, S., & Hayatsu, H. (2000). Identification of mutagenic heterocyclic amines IQ, Trp-P-1 and / A aC in the water of the Danube River. In *Mutation Research* (Vol. 466). www.elsevier.com/locate/mutres
- Katritzky, A. R., Maran, U., Lobanov, V. S., & Karelson, M. (2000). Structurally diverse quantitative structure--property relationship correlations of technologically relevant physical properties. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 40(1), 1–18. <https://doi.org/10.1021/CI9903206>
- KHAN, M. F., BOOR, P. J., GU, Y., NANCY, W. A., & ANSARI, G. A. S. (1997). Oxidative Stress in the Splenotoxicity of Aniline. *Toxicological Sciences*, 35(1), 22–30. <https://doi.org/10.1093/TOXSCI/35.1.22>
- Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., & Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: A national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*, 36(6), 1202–1211. <https://doi.org/10.1021/es011055j>
- Korinth, G., Schaller, K. H., & Drexler, H. (2013).] 928 Percutaneous absorption of aromatic amines and the risk assessment resulting from the dermal pathway. In *Frontiers in Bioscience* (Vol. 5).

- Kriek, E. (1974). CARCINOGENESIS BY AROMATIC AMINES. In *Biochimica et Biophysica Acta* (Vol. 355).
- Krupčíková, S., Stiborek, M., Šimek, Z., & Vrana, B. (2023). Factors affecting diffusion of polar organic compounds in agarose hydrogel applied to control mass transfer in passive samplers. *Environmental Science and Pollution Research International*, 30(58), 122470–122481. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-30929-3>
- Lai, D. Y., Woo, Y. T., Argus, M. F., & Arcos, J. C. (1996). Mechanism-based structure-activity relationship (SAR) analysis of carcinogenic potential of 30 NTP test chemicals. In *Designing safer chemicals. Green chemistry for pollution prevention* (pp. 139–160). American Chemical Society.
- Liu, Y., Li, C., Bao, J., Wang, X., Yu, W., & Shao, L. (2022). Degradation of Azo Dyes with Different Functional Groups in Simulated Wastewater by Electrocoagulation. *Water*, 14(1), 123. <https://doi.org/10.3390/w14010123>
- Luellen, D. R., & Shea, D. (2002). Calibration and field verification of semipermeable membrane devices for measuring polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Environmental Science and Technology*, 36(8), 1791–1797. <https://doi.org/10.1021/es0113504>
- Malaj, E., Von Der Ohe, P. C., Grote, M., Kühne, R., Mondy, C. P., Usseglio-Polatera, P., Brack, W., & Schäfer, R. B. (2014). Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(26), 9549–9554. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321082111>
- Mayer, P., Tolls, J., Hermens, J. L. M., & Mackay, D. (2003). Peer Reviewed: Equilibrium Sampling Devices. *Environmental Science & Technology*, 37(9), 184A-191A. <https://doi.org/10.1021/ES032433I>
- Miller, J. A., & Miller, E. C. (1948). The carcinogenicity of certain derivatives of p-dimethylaminobenz in the rat. *The Journal of Experimental Medicine*, 87(2), 139–156. <https://doi.org/10.1084/JEM.87.2.139>
- Milman, H. A., & Peterson, C. (1984). Apparent correlation between structure and carcinogenicity of phenylenediamines and related compounds. *Environmental Health Perspectives, VOL. 56*, 261–273. <https://doi.org/10.1289/EHP.8456261>
- Muz, M., Dann, J. P., Jäger, F., Brack, W., & Krauss, M. (2017). Identification of Mutagenic Aromatic Amines in River Samples with Industrial Wastewater Impact. *Environmental Science and Technology*, 51(8), 4681–4688. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00426>
- Muz, M., Krauss, M., Kutsarova, S., Schulze, T., & Brack, W. (2017). Mutagenicity in Surface Waters: Synergistic Effects of Carboline Alkaloids and Aromatic Amines. *Environmental Science & Technology*, 51(3), 1830–1839. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05468>
- Namieśnik, J., Zabiegała, B., Kot-Wasik, A., Partyka, M., & Wasik, A. (2005). Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: A review. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (Vol. 381, Issue 2, pp. 279–301). <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2830-8>

- Narayana, B., & Sunil, K. (2009). A Spectrophotometric Method for the Determination of Nitrite and Nitrate. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*.
- Oturan, M. A., & Brillas, E. (2007). Electrochemical Advanced Oxidation Processes (EAOPs) for Environmental Applications. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.4152/PEA.200701001>
- Palmiotto, G., Pieraccini, G., Moneti, G., & Dolara, P. (2001). Determination of the levels of aromatic amines in indoor and outdoor air in Italy. *Chemosphere*, 43(3), 355–361. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00109-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00109-0)
- Pandey, A., Singh, P., & Iyengar, L. (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59(2), 73–84. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2006.08.006>
- Parales, R. E., & Resnick, S. M. (2006). Aromatic Ring Hydroxylating Dioxygenases. *Pseudomonas*, 4, 287–340. https://doi.org/10.1007/0-387-28881-3_9
- Paschke, A., Schwab, K., Brümmer, J., Schüürmann, G., Paschke, H., & Popp, P. (2006). Rapid semi-continuous calibration and field test of membrane-enclosed silicone collector as passive water sampler. *Journal of Chromatography A*, 1124(1–2), 187–195. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2006.06.094>
- Patrianakos, C., & Hoffmann, D. (1979). Chemical Studies on Tobacco Smoke LXIV. On the Analysis of Aromatic Amines in Cigarette Smoke. *Journal of Analytical Toxicology*, 3(4), 150–154. <https://doi.org/10.1093/JAT/3.4.150>
- Pauluhn, J. (2004). Subacute inhalation toxicity of aniline in rats: analysis of time-dependence and concentration-dependence of hematotoxic and splenic effects. *Toxicological Sciences : An Official Journal of the Society of Toxicology*, 81(1), 198–215. <https://doi.org/10.1093/TOXSCI/KFH187>
- Pereira, L., Mondal, P. K., & Alves, M. (2015). Aromatic amines sources, environmental impact and remediation. In *Pollutants in Buildings, Water and Living Organisms* (pp. 297–346). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-19276-5_7
- Pereira, R., Pereira, L., van der Zee, F. P., & Madalena Alves, M. (2011). Fate of aniline and sulfanilic acid in UASB bioreactors under denitrifying conditions. *Water Research*, 45(1), 191–200. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2010.08.027>
- Pesch, B., Taeger, D., Johnen, G., Gawrych, K., Bonberg, N., Schwentner, C., Wellhäußer, H., Kluckert, M., Leng, G., Nasterlack, M., Lotan, Y., Stenzl, A., & Brüning, T. (2014). Screening for bladder cancer with urinary tumor markers in chemical workers with exposure to aromatic amines. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 87(7), 715–724. <https://doi.org/10.1007/S00420-013-0916-3>
- Pinheiro, H. M., Touraud, E., & Thomas, O. (2004). Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. *Dyes and Pigments*, 61(2), 121–139. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2003.10.009>
- Platzek, T., Lang, C., Grohmann, G., Gi, U. S., & Baltes, W. (1999). Formation of a carcinogenic aromatic amine from an azo dye by human skin bacteria in vitro. *Human*

- & *Experimental Toxicology*, 18(9), 552–559.
<https://doi.org/10.1191/096032799678845061>
- Ploeg, M., Aben, K. K. H., & Kiemeney, L. A. (2009). The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World Journal of Urology*, 27(3), 289–293.
<https://doi.org/10.1007/S00345-009-0383-3>
- Poste, A. E., Grung, M., & Wright, R. F. (2014). Amines and amine-related compounds in surface waters: A review of sources, concentrations and aquatic toxicity. *Science of the Total Environment*, 481(1), 274–279.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.066>
- Posthuma, L., Altenburger, R., Backhaus, T., Kortenkamp, A., Müller, C., Focks, A., de Zwart, D., & Brack, W. (2019). Improved component-based methods for mixture risk assessment are key to characterize complex chemical pollution in surface waters. *Environmental Sciences Europe*, 31(1), 70.
<https://doi.org/10.1186/s12302-019-0246-5>
- Pubchem. (2023). *PubChem*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Puvaneswari, N., Muthukrishnan, J., & Gunasekaran, P. (2006). Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 44 8, 618–626. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:28805665>
- Rafii, F., Franklin, W., Heflich, R. H., & Cerniglia, C. E. (1991). Reduction of nitroaromatic compounds by anaerobic bacteria isolated from the human gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(4), 962–968.
<https://doi.org/10.1128/AEM.57.4.962-968.1991>
- Raquel, E., Ferraz, A., Rodrigues De Oliveira, G. A., & Palma De Oliveira, D. (2012). The impact of aromatic amines on the environment: risks and damages. In *Frontiers in Bioscience* (Vol. 4).
- Razo-Flores, E., Donlon, B., Field, J., & Lettinga, G. (1996). Biodegradability of N-substituted aromatics and alkylphenols under methanogenic conditions using granular sludge. *Water Science and Technology*, 33(3), 47–57.
<https://doi.org/10.2166/WST.1996.0058>
- Rehn, L. (1895). *Blasengeschwülste bei Fuch-sin-arbeitern*.
- Reifferscheid, G., & Grummt, T. (2000). *GENOTOXICITY IN GERMAN SURFACE WATERS-RESULTS OF A COLLABORATIVE STUDY*.
- Saleh, T. A., & Gupta, V. K. (2012). Photo-catalyzed degradation of hazardous dye methyl orange by use of a composite catalyst consisting of multi-walled carbon nanotubes and titanium dioxide. *Journal of Colloid and Interface Science*, 371(1), 101–106. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2011.12.038>
- Schmidt, T. C., Leß, M., Haas, R., Löw, E. V., & Steinbach, K. (1999). Determination of Aromatic Amines in Ground and Waste Water by Two New Derivatization Methods. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 74(1–4), 25–41. <https://doi.org/10.1080/03067319908031414>
- Schmidt, T. C., Less, M., Haas, R., Von Löw, E., Steinbach, K., & Stork, G. (1998). Gas chromatographic determination of aromatic amines in water samples after solid-phase extraction and derivatization with iodine: I. Derivatization. *Journal of*

- Chromatography A*, 810(1–2), 161–172. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00233-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00233-7)
- Seethapathy, S., Górecki, T., & Li, X. (2008). Passive sampling in environmental analysis. In *Journal of Chromatography A* (Vol. 1184, Issues 1–2, pp. 234–253). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.07.070>
- Shah, A. D., & Mitch, W. A. (2012). Halonitroalkanes, halonitriles, haloamides, and N-nitrosamines: A critical review of nitrogenous disinfection byproduct formation pathways. *Environmental Science and Technology*, 46(1), 119–131. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/es203312s>
- Shah, P. V., & Guthrie, F. E. (1983). Dermal absorption of benzidine derivatives in rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 31(1), 73–78. <https://doi.org/10.1007/BF01608769>
- Silvani, L., Riccardi, C., Eek, E., Papini, M. P., Morin, N. A. O., Cornelissen, G., Oen, A. M. P., & Hale, S. E. (2017). Monitoring alkylphenols in water using the polar organic chemical integrative sampler (POCIS): Determining sampling rates via the extraction of PES membranes and Oasis beads. *Chemosphere*, 184, 1362–1371. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.06.083>
- Škodová, A., Prokeš, R., Šimek, Z., & Vrana, B. (2016). In situ calibration of three passive samplers for the monitoring of steroid hormones in wastewater. *Talanta*, 161, 405–412. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2016.08.068>
- Solís, M., Solís, A., Inés Pérez, H., Manjarrez, N., & Flores, M. (2012). Microbial decoloration of azo dyes: A review. *Process Biochemistry*, 47, 1723–1748. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.08.014>
- Surdyk, N., Farrow, L., Cassidy, R., & Doody, D. (2017). *Use of passive samplers in drinking water catchments Why Passive Sampling?* <https://www.fairway-is.eu/index.php/key-messages/research-result-highlights/342-use-of-passive-samplers-in-drinking-water-catchments>
- Tasca, A. L., & Fletcher, A. (2018). State of the art of the environmental behaviour and removal techniques of the endocrine disruptor 3,4-dichloroaniline. *Journal of Environmental Science and Health. Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 53(3), 260–270. <https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1394701>
- Thompson, P. A., Demarini, D. M., Kadlubar, F. F., McClure, G. Y., Brooks, L. R., Green, B. L., Fares, M. Y., Stone, A., David Josephy, P., & Ambrosone, C. B. (2002). Evidence for the presence of mutagenic arylamines in human breast milk and DNA adducts in exfoliated breast ductal epithelial cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 39(2–3), 134–142. <https://doi.org/10.1002/EM.10067>
- Turesky, R. J. (2010). *Chapter 2 - Heterocyclic Aromatic Amines: Potential Human Carcinogens* (J. C. Fishbein, Ed.; Vol. 4, pp. 37–83). Elsevier. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1872-0854\(10\)04002-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1872-0854(10)04002-6)
- Urík, J., & Vrana, B. (2019). An improved design of a passive sampler for polar organic compounds based on diffusion in agarose hydrogel. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04843-6>

- US EPA. (2014). *Toxic and Priority Pollutants Under the Clean Water Act*.
<https://www.epa.gov/eg/toxic-and-priority-pollutants-under-clean-water-act>
- Van Hoogstraten, L. M. C., Vrieling, A., Van Der Heijden, A. G., Kogevinas, M., Richters, A., & Kiemeny, L. A. (2023). Global trends in the epidemiology of bladder cancer: challenges for public health and clinical practice. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 20, 287–304. <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00744-3>
- Vermeirssen, E. L. M., Dietschweiler, C., Escher, B. I., Van Der Voet, J., & Hollender, J. (2012). Transfer kinetics of polar organic compounds over polyethersulfone membranes in the passive samplers POCIS and Chemcatcher. *Environmental Science & Technology*, 46(12), 6759–6766. <https://doi.org/10.1021/ES3007854>
- Vrana, B., Allan, I. J., Greenwood, R., Mills, G. A., Dominiak, E., Svensson, K., Knutsson, J., & Morrison, G. (2005). Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 24(10), 845–868.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.06.006>
- Vrana, B., Mills, G. A., Dominiak, E., & Greenwood, R. (2006). Calibration of the Chemcatcher passive sampler for the monitoring of priority organic pollutants in water. *Environmental Pollution*, 142(2), 333–343. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.10.033>
- Vrana, B., Popp, P., Paschke, A., & Schüürmann, G. (2001). Membrane-enclosed sorptive coating. An integrative passive sampler for monitoring organic contaminants in water. *Analytical Chemistry*, 73(21), 5191–5200.
<https://doi.org/10.1021/ac010630z>
- Wakabayashi, K., Ushiyama, H., Takahashi, M., Nukaya, H., Kim, S. B., Hirose, M., Ochiai, M., Sugimura, T., & Nagao, M. (1993). Exposure to heterocyclic amines. *Environmental Health Perspectives*, 99, 129–134. <https://doi.org/10.1289/EHP.9399129>
- Walpole, A. L., Williams, M. H. C., & Roberts, D. C. (1952). The Carcinogenic Action of 4-Aminodiphenyl and 3:2'-Dimethyl-4-Aminodiphenyl. *Occupational and Environmental Medicine*, 9(4), 255–263. <https://doi.org/10.1136/oem.9.4.255>
- Wang, W., Ren, S., Zhang, H., Yu, J., An, W., Hu, J., & Yang, M. (2011). Occurrence of nine nitrosamines and secondary amines in source water and drinking water: Potential of secondary amines as nitrosamine precursors. *Water Research*, 45(16), 4930–4938. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2011.06.041>
- Weber, E. J., Colón, D., & Baughman, G. L. (2001). Sediment-associated reactions of aromatic amines. 1. Elucidation of sorption mechanisms. *Environmental Science & Technology*, 35(12), 2470–2475. <https://doi.org/10.1021/ES001759D>
- Wellner, T., Lüersen, L., Schaller, K. H., Angerer, J., Drexler, H., & Korinth, G. (2008). Percutaneous absorption of aromatic amines – A contribution for human health risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 46(6), 1960–1968.
<https://doi.org/10.1016/J.FCT.2008.01.036>
- Yang, J., Wang, H., & Zhang, H. (2008). One-pot synthesis of silver nanoplates and charge-transfer complex nanofibers. *Journal of Physical Chemistry C*, 112(34), 13065–13069. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jp802604d>
- Zaixing, H. (2006). *Uptake Characteristics and Speciation of Heavy Metals on the Chemcatcher Passive Sampler*.

- Zhang, H., & Davison, W. (1999). Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. *Analytica Chimica Acta*, 398(2–3), 329–340.
[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00458-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00458-4)
- Zhang, H., Zhou, Y., Guo, S., Wang, Z., & Wang, Q. (2022). Mineralization of High-Concentration Aqueous Aniline by Hybrid Process. *Water (Switzerland)*, 14(4).
<https://doi.org/10.3390/w14040630>
- Zhang, Z., Troldborg, M., Yates, K., Osprey, M., Kerr, C., Hallett, P. D., Baggaley, N., Rhind, S. M., Dawson, J. J. C., & Hough, R. L. (2016). Evaluation of spot and passive sampling for monitoring, flux estimation and risk assessment of pesticides within the constraints of a typical regulatory monitoring scheme. *Science of The Total Environment*, 569–570, 1369–1379. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.06.219>
- Zhu, J., & Aikawa, B. (2004). Determination of aniline and related mono-aromatic amines in indoor air in selected Canadian residences by a modified thermal desorption GC/MS method. *Environment International*, 30(2), 135–143.
[https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00168-5](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00168-5)
- Zhu, Y., Wang, M., Du, H., Wang, F., Mou, S., & Haddad, P. R. (2002). Organic analysis by ion chromatography. 1. Determination of aromatic amines and aromatic diisocyanates by cation-exchange chromatography with amperometric detection. *Journal of Chromatography. A*, 956(1–2), 215–220.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00238-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00238-8)
- Zollinger, H. (1987). Color chemistry: Syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments. *Leonardo*, 22(3/4), 456.
<https://doi.org/10.2307/1575449>