MASARYKOVA UNIVERZITA

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Nástroje pro sledování bioakumulace perfluorovaných látek v sladkovodních organizmech

Bakalářská práce

MICHAL NOVOTNÝ

Vedoucí práce: doc. Ing. Branislav Vrana, PhD

Ústav biochemie
obor Biochemie

Brno 2020

UNIVERSITAS MASARYKIANA BRUNENSIS • FACULTAS RERUM NATURALIUM •

SCIENTIA EST POTENTIA

Bibliografický záznam

Autor:	Michal Novotný Přírodovědecká fakulta Masarykova univerzita Ústav biochemie
Název práce:	Nástroje pro sledování bioakumulace perfluorovaných látek v sladkovodních organizmech
Studijní program:	**Biochemie**
Studijní obor:	Biochemie
Vedoucí práce:	doc. Ing. Branislav Vrana, PhD
Rok:	2020
Počet stran:	60
Klíčová slova:	PFAS, bioakumulace, pasivní vzorkování, ryba

Bibliographic record

Author: Michal Novotný
Faculty of Science
Masaryk University
RECETOX

Title of Thesis: Tools for monitoring the bioaccumulation of perfluorinated substances in aquatic organisms

Degree Programme: Biochemistry

Field of Study: Biochemistry

Supervisor: doc. Ing. Branislav Vrana, PhD

Year: 2020

Number of Pages: 60

Keywords: PFAS, bioaccumulation, passive sampling, fish

Abstrakt

Perfluorované sloučeniny (PFAS) jsou rozsáhle využívané perzistentní organické polutanty. Jejich koncentrace byly naměřeny v mnoha typech prostředí a organismů, včetně lidského. Mnohé PFAS můžeme označit za bioakumulativní. Cílem této práce bylo popsat rozsah současného poznání o PFAS a jejich bioakmumulaci a v praktické části otestovat vhodnost metody pasivního vzorkování pro stanovení koncentrací PFAS ve vodě a v tkáni ryb. Principem metody je dosažení rovnovážných koncentrací sledovaných látek mezi médiem a sorpčním gelem procesem difuze, s cílem získat vzájemně srovnatelné parametry přímo úměrné chemické aktivitě PFAS v monitorovaných matricích.

Abstract

Perfluorinated substances (PFAS) are commonly used persistent organic pollutants. They have been detected in many types of environments and organisms, including humans. Many of these substances bioaccumulate. The goal of this thesis was to compile known information on the subject and to determine whether passive sampling could be used to measure PFAS concentrations in water and fish, to establish bioaccumulation factors. This method is based on reaching equilibrium between the medium and the sorption gel by diffusion with the aim to obtain mutually comparable parameters proportional to chemical activity of PFAS in monitored matrices.

MUNI
SCI

MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KOTLÁŘSKÁ 2, 611 37 BRNO
IČ: 00216224
DIČ: CZ00216224

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Akademický rok: 2019/2020

Ústav:	Ústav biochemie
Student:	Michal Novotný
Program:	Biochemie
Obor:	Biochemie

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

Název práce:	Nástroje pro sledování bioakumulace perfluorovaných látek v sladkovodních organizmech
Název práce anglicky:	Tools for monitoring the bioaccumulation of perfluorinated substances in aquatic organisms
Jazyk závěrečné práce:	čeština

Oficiální zadání:
Perfluorované sloučeniny (PFAS) jsou skupinou chemických látek s jedinečnými vlastnostmi (např. povrchová aktivita, hydrofobicita, oleofobicita),které umožňují široké uplatnění při úpravě vlastností obalových materiálů, textilu nebo v hasících přístrojích. Některé z nich se dostaly na seznam zakázaných látek (Stockholmská úmluva), ovšem náhrady za ně jsou často opět PFC nedostatečně prozkoumané z hlediska jejich dopadů na lidské zdraví. Mnohé PFAS jsou persistentní a některé mají tendenci akumulace v tkáních živočichů (bioakumulace). Pasivní vzorkování představuje inovativní metodu monitorování hladin kontaminantů ve vodním prostředí a souvisejících matricích, včetně vody, dnových sedimentů a tkání vodních živočichů. Pasivní odběr vzorků je založen na spontánní difuzi sledovaných látek (v našem případě PFAS) z vzorkovaného média do vrstvy sorbentu. Koncentrace látek v pasivních vzorkovačích ekvilibrovaných s různými složkami vodního prostředí umožňují jednoduše identifikovat gradienty a trendy kontaminace a sledovat i složitější jevy, jako je např. bioakumulace látek v rybách. Použití rovnovážního pasivního vzorkování ke studiu distribuce PFAS z vody do ryb dosud nebylo popsáno. Cílem teoretické části bakalářské práce je literární rešerše k problematice bioakumulace a metabolické transformace PFAS ve sladkovodních rybách. V praktické části pak bude testována metoda pasivního vzorkování PFAS ve vodním sloupci a v tkáních sladkovodních ryb

Vedoucí práce:	doc. Ing. Branislav Vrana, PhD.
Datum zadání práce:	2. 10. 2019
V Brně dne:	4. 6. 2020

Čestné prohlášení

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

V Brně 16. června 2020 .....

Michal Novotný

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu práce doc. Ing. Branislavu Vranovi a Mgr. Pavle Fialové za pomoc. Vážím si faktu, že jsem vždy dostal odpověď na své otázky a pomoc při zpracování závěrečné práce. Děkuji.

1 Obsah

Seznam obrázků 17

Seznam tabulek 18

Seznam pojmů a zkratek 19

1 Cíle práce 21

2 Perfluorované sloučeniny a jejich bioakumulace 22

2.1 Obecná charakteristika ... 22
2.2 Fyzikální a chemické vlastnosti ... 22
2.3 Využití ... 23
2.4 Výroba ... 23
2.4.1 Elektrochemická fluorizace (ECF) ... 24
2.4.2 Telomerizace ... 24
2.5 Emise ... 25
2.5.1 Hasičská výcviková střediska a místa zásahu ... 26
2.5.2 Průmyslové objekty ... 26
2.5.3 Skládky ... 26
2.5.4 Čistírny odpadních vod ... 27
2.6 Transport a osud ... 27
2.6.1 Vodní prostředí ... 27
2.6.2 Atmosféra ... 28
2.6.3 Depozice ... 28
2.7 Expozice a toxicita ... 29
2.8 Přeměna perfluorovaných sloučenin ... 29
2.8.1 Abiotická transformace ... 29
2.8.2 Biotransformace ... 30
2.9 Bioakumulace ... 32

2.9.1 Biokoncentrační faktor ... 33
2.9.2 Bioakumulační faktor ... 34
2.9.3 Biomagnifikační faktor ... 34
2.10 Faktory ovlivňující bioakumulaci ... 35
2.10.1 Vlastnosti látek ... 35
(1) Délka fluorovaného alifatického řetězce ... 35
(2) Rozdílné koncové funkční skupiny molekul PFAS ... 35
2.10.2 Vlastnosti organismu ... 36
(1) Velikost ... 36
(2) Věk ... 36
(3) Pohlaví ... 36

3 Posouzení vhodnosti metody pasivního vzorkování PFAS 38

3.1 Cíl praktické části ... 38
3.2 Materiál a metody ... 39
3.2.1 Příprava vzorkovačů ... 39
3.3 Rozmístění a sběr vzorkovačů ... 40
3.4 Zpracování vzorků ... 42
3.4.1 Extrakce PFAS ze vzorků sorpčního gelu ... 42
3.4.2 Extrakce PFAS ze vzorků vody ... 43
3.5 Instrumentální analýza ... 44
3.6 Zajištění a řízení kvality ... 45
3.6.1 Terénní kontrola ... 45
3.6.2 Procesní kontrola ... 45
3.6.3 Určení výtěžnosti ... 45
3.7 Zpracování dat ... 45
3.7.1 Pasivní vzorkovače ... 46
3.8 Bodové odběry vody ... 47
3.9 Diskuse ... 48
3.9.1 Kontaminace vzorků ... 48

3.9.2 Srovnání použitých metod 48

3.9.3 Výhody metody pasivního vzorkování pro určení koncentrací PFAS ve vodě 49

3.9.4 Normy environmentální kvality a výsledky měření 50

3.10 Realizace stanovení PFAS v biotě 51

4 Závěr **52**

Použité zdroje **53**

Seznam obrázků

Obr. 1: Reakce 1-oktansulfonylfluoridu s fluorovodíkem 24
Obr. 2: Dvoustupňová výroba PFOA 24
Obr. 3: Tvorba fluorotelomerů z TFE 25
Obr. 4: Molekula perfluorooktansulfonátu 28
Obr. 5: Schéma potenciálních biotransformačních drah pro 8:2 FTAc a 8:2 FTCA. 31
Obr. 6: Degradační dráha n-EtFOSE. Adaptováno z (Hekster & De Voogt, 2002) 32
Obr. 7: Schéma použití metody rovnovážného pasivního vzorkování ke sledování bioakumulace PFAS z vody do vodních organismů (biota). .. 38
Obr. 8: Schéma pasivního vzorkovače 40
Obr. 9: Fotografie složeného vzorkovače 40
Obr. 10: Mapa lokalit na řece Moravě 42
Obr. 11: Srovnání metod, grafické znázornění 49
Obr. 12: Grafické znázornění průměrných koncentrací PFAS ve vodě .. 50

Seznam tabulek

Tab. 1: Rozmístění pasivních vzorkovačů 41
Tab. 2: Sběr pasivních vzorkovačů 42
Tab. 3: Sledované perfluorované látky, *vzorkovací rychlosti pasivního vzorkovače při 25 ^{0}C (Urík & Vrana, 2019) 44
Tab. 4: Výsledné hodnoty pro rovnovážné pasivní vzorkovaní ve vodě 47
Tab. 5: Výsledné hodnoty pro bodové odběry vody 47

Seznam pojmů a zkratek

PFAS	–	perfluorované sloučeniny
ECF	–	elektrochemická fluorizace
POSF	–	perfluorooktansulfonylfluorid
TFE	–	tetrafluorethan
pKa	–	disociační konstanta kyseliny
AFFF	–	aqueous film-forming foams
PFAA	–	perfluoroalkylové kyseliny
MeFOSE	–	methylperfluorooktansulfonamidoethanol
EtFOSE	–	ethylperfluorooktansulfonamidoethanol
FTOH	–	fluorotelomer alkohol
PFCA	–	perfluorokarboxylové kyseliny
FTCA	–	fluorotelomerkarboxylová kyselina
POP	–	perzistentní organický polutant
FTUCA	–	nenasycená fluorotelomerkarboxylová kyselina
PFPA	–	perfluoropentanová kyselina
PFHxA	–	perfluorohexanová kyselina
PFHpA	–	perfluoroheptanová kyselina
PFOA	–	perfluorooktanová kyselina
PFNA	–	perfluorononanová kyselina
PFDA	–	perfluorodekanová kyselina
PFDoDA	–	perfluorododekanová kyselina
PFTrDA	–	perfluorotridekanová kyselina
PFTeDA	–	perfluorotetradekanová kyselina
PFBS	–	perfluorobutansulfoniová kyselina
PFHxS	–	perfluorohexansulfoniová kyselina

PFOS	–	perfluorooktansulfoniová kyselina
PFDS	–	perfluorodekansulfonát
PFDo	–	perfluorododekanoát
PFT	–	perfluorotetradekanoát
PFOSA	–	perfluorooktansulfonamid
PFOSAA	–	perfluorooktansulfonamidoacetát
FTUAL	–	nenasycený fluorotelomeraldehyd
FTAL	–	fluorotelomeraldehyd
FTAc	–	fluorotelomerakrylát

1 Cíle práce

Monitorovaní perfluorovaných látek v prostředí se v posledních letech stalo důležitým. Po dekádách používání se zjišťuje, kam až jsou tyto perzistentní látky schopné se šířit a jaké účinky mají na živé organismy a člověka. Mnohé z těchto látek mají schopnost bioakumulace, tzn. hromadění v tkáních organismů. V teoretickém úvodu popisuji vlastnosti perfluorovaných látek, potenciální zdroje jejich emisí a jejich chování v přírodě. Důležitou částí je také přehled současných znalostí o jejich bioakumulačním chování a možných degradačních drahách. Cílem praktické části práce je zjistit, zda je metoda pasivního vzorkování vhodná pro monitoring PFAS ve vodě a v biotě. Tato metoda funguje na základě ustanovení difuzního gradientu mezi matricí a sorpčním gelem do vyrovnání koncentrací sledovaných látek v obou médiích. V první řadě bude nutné otestovat metodu pro stanovení PFAS v povrchových vodách. Výsledky budou porovnány se standardně používanou metodou bodových odběrů. Z tohoto porovnání bude možné určit, zda je metoda vhodná, či nikoliv. Úkolem druhé části bude porovnání metody pasivního vzorkování se stanovením PFAS z extraktů homogenizované tkáně. Pokud by se metoda pasivního vzorkování ukázala jako vhodná pro stanovení ve vodě i v biotě, bylo by pak možné ji použít pro kvantitativní charakterizaci bioakumulačního potenciálu PFAS. Stanovení koncentrací pomocí principiálně stejné metody by umožnilo přímé porovnání chemické aktivity PFAS v obou matricích, jelikož jednotky obou stanovovaných veličin jsou stejné.

2 Perfluorované sloučeniny a jejich bioakumulace

2.1 Obecná charakteristika

Polyfluoroalkylové a perfluoroalkylové sloučeniny jsou souhrnně označované zkratkou PFAS. Jedná se o uměle vytvořené organické sloučeniny ze skupiny fluorizovaných chemikálií. Polyfluorované látky mají alespoň jednu kovalentní vazbu C-H, na uhlících mimo funkční skupiny, nahrazenu vazbou C-F. Aby látka byla označena jako perfluorovaná (C_nF_{2n+1}) musí být fluorem nahrazeny všechny předešle definované vazby C-H. Vazba C-F je velice stabilní a dobře odolává biologickému rozkladu. To dělá ve spojení s hydrofobním a oleofobním charakterem molekul z PFAS důležitou součást průmyslově vyráběných impregnací, ochranných materiálů, či hasících přístrojů. Kvůli těmto vlastnostem, souvisejícím potenciálem k persistenci a bioakumulaci a rozšířenému použití PFAS, však byla velká řada látek detekována v prostředí, zvěři i člověku. Tento trend popsali studie vedené J.P Giesym, kde se ukazuje koncentrace perfluorovaných látek ve vodě, ve vzduchu i v biotě (Giesy & Kannan, 2001; John P. Giesy, 2002). Od doby těchto studií se vědecká komunita zabývá monitorováním PFAS, hlavně PFOA a PFOS. Má se za to, že PFOA, PFOS a jim podobné látky se do životního prostředí dostávají skrze průmyslové využívání, užitím a likvidací spotřebního zboží, čí biotickou a abiotickou degradací větších funkčních derivátů a polymerů (Hekster & De Voogt, 2002). Potenciální environmentální a toxikologické dopady vedly k legislativním opatření v Evropské unii (European Commission, 2013) i v zemích severní Ameriky. PFOS a PFOA jsou již součástí Stockholmské Úmluvy o perzistentních organických polutantech (Stockholm Convention & UNEP, 2017).

2.2 Fyzikální a chemické vlastnosti

Perfluoroalkylové řetězce (C_nF2_{n+1}, F-alkyly) se od alkylových řetězců liší v mnoha ohledech. Energie vazby C-H se pohybuje okolo 413 kJ.mol^{-1}. Vazebná energie C-F je okolo 485 kJ.mol^{-1}, jedná se tak o nejsilnější jednoduchou kovalentní vazbu v organické chemii. Více fluorových substitucí na stejném uhlíku dále zvyšuje energii vazby (př. CF_3CF_3 - 530 kJ.mol^{-1},

CH_3CH_2F - 450 kJ.mol^{-1}). Vysoká elektronegativita atomu fluoru vytváří na vazbě C-F elektrický dipól. Perfluorované látky se dále vyznačují inertními chemickými vlastnostmi. Děje se tomu tak jelikož atomy fluoru na uhlíkovém řetězci stericky brání navázání dalších funkčních skupin a hustý elektronový plášť odpuzuje ostatní reagenty (Riess, 2005). Mohou tak vydržet i proti velice agresivním látkám, jakými jsou silná oxidační a redukční činidla.

Perfluorované látky jsou také odolné vůči teplu, mohou vydržet při teplotách až 400 ^{0}C. Látky jsou vysoce hydrofobní a zároveň i lipofobní. V poslední řadě také nejsou biodegradabilní. V přírodě nejsou známé žádné enzymatické dráhy, které by mohly PFAS rozkládat zcela.

2.3 Využití

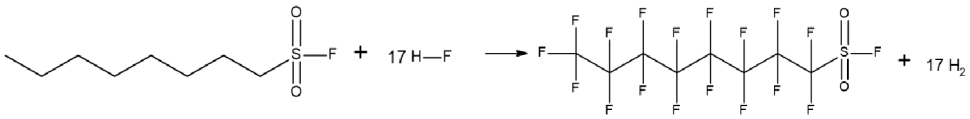
PFAS se v průmyslu používají už od roku 1950. Jejich hydrofobních a oleofobních vlastností se využívá v textilním a kožešnickém průmyslu na impregnace oblečení. Vrstva impregnace vytváří obal odpuzující vodu a tuky. Ošetřené materiály jsou pak nepromokavé a nepromastitelné. Tepelné odolnosti a inertního chování se využívá k výrobě produktů z Teflonu, či pro výrobu tělních implantátů (Gore-Tex). PFAS bychom našli také v hasících pěnách či kobercích. Velkými výrobci PFAS jsou v současné době jsou společnosti DuPont nebo AGC Chemicals (Hekster & De Voogt, 2002).

2.4 Výroba

Ke komerční výrobě perfluoroalkylových sloučenin se používají dvě hlavní metody, elektrochemická fluorizace (EFC) a telomerizace. Nejdůležitějším meziproduktem pro EFC je perfluoro-1-oktansulfonylfluorid neboli POSF ($C_8F_{17}SO_2F$). Pro telomerizaci je to 8:2 FTOH ($C_8F_{17}C_2OH$). Rozdílem mezi těmito metodami je typ produktů, které lze vytvořit. Produkty EFC jsou lineární i rozvětvené řetězce s lichým i sudým počtem uhlíků. Naproti tomu při telomerizaci jsou tvořené vždy nevětvené řetězce se sudým počtem uhlíků v řetězci (Hekster & De Voogt, 2002).

2.4.1 Elektrochemická fluorizace (ECF)

Při tomto způsobu výroby je organická látka rozpuštěna v bezvodém fluorovodíku (Obr. 1). Nahrazení vodíku fluorem je dosaženo pomocí stejnosměrného proudu, který prochází fluorovodíkem. Při tomto procesu může dojít k fragmentaci řetězce výchozí organické látky a vzniku nečistot.



Obr. 1: Reakce 1-oktansulfonylfluoridu s fluorovodíkem

Reakcí 1-oktansulfonylfluoridu s fluorovodíkem vzniká perfluoro-1-oktansulfonylfluorid. Všechny vodíky byly nahrazeny fluorem (Hekster & De Voogt, 2002).

Elektrochemická metoda se standardně používala i k výrobě PFOA (Obr. 2), v minulosti jedné z nejpoužívanějších perfluorovaných látek. Nyní je její použití regulováno Stockholmskou úmluvou.

$$C_8H_{17}COCl + 18HF \longrightarrow C_8F_{17}COF + 17\,H_2 + HCl$$

$$C_8F_{17}COF + H_2O \longrightarrow C_8F_{17}COOH + HF$$

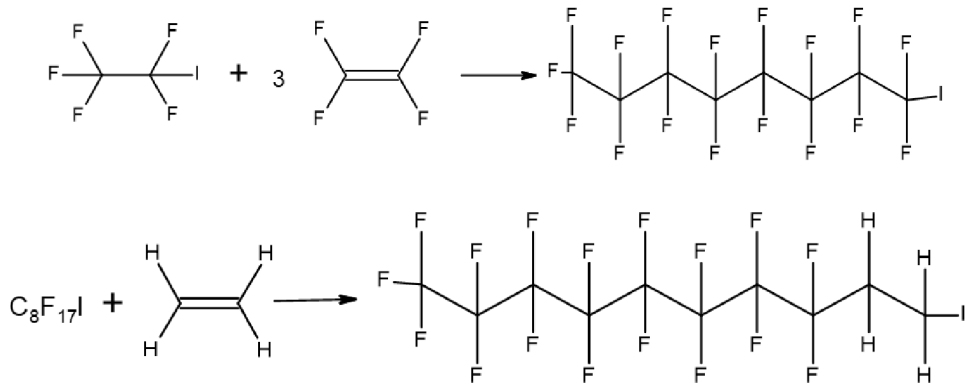
Obr. 2: Dvoustupňová výroba PFOA

Reakcí oktanoylchloridu s fluorovodíkem vzniká perfluorooktanoylfluorid, z první reakce. V druhé reakci jeho hydrolýzou vzniká perfluorooktanová kyselina, PFOA (Hekster & De Voogt, 2002).

Elektrochemická fluorizace se používá hlavně k výrobě perfluorooktansulfonyl fluoridu (POSF) a perfluorooktanové kyseliny.

2.4.2 Telomerizace

V tomto procesu reaguje jodopentafluoroethan s *n* jednotkami tetrafluoroethenu (TFE). Jako příklad jsou na obrázku použity 3 jednotky TFE (Obr. 3).



Obr. 3: Tvorba fluorotelomerů z TFE

Jako první reaguje jodopentafluoroethan s třemi jednotkami tetrafluoroethylenu. Vzniklý perfluorooktyljodid reaguje s ethylenem a tvoří 1H,1H,2H,2H-perfluorodecyljodid. (Hekster & De Voogt, 2002).

Produktem jsou vždy lineární řetězce se sudým počtem atomů uhlíku. Telomerizace je účinnější než ECF. Tvoří se méně nežádoucích produktů, ty mohou být popřípadě lehce odstraněny destilací. Její produkty nejsou však plně perfluorované a obsahují charakteristickou ethylenovou skupinu. I přesto je však telomerizace hojně využívanou metodou mezi velkými výrobci (Hekster & De Voogt, 2002).

2.5 Emise

Z literatury můžeme identifikovat čtyři hlavní zdroje znečištění PFAS: hasičská výcviková střediska a místa hasičských zásahů, průmysl, skládky a čistírny odpadních vod (ITRC, 2018). Samozřejmě, existují i další zdroje, které mohou mít v určitých případech dopad na životní prostředí, v obecném porovnání je však můžeme označit za méně důležité. U všech těchto zdrojů můžeme identifikovat i pět hlavních způsobů emisí. Jedná se o emise při aplikaci a reaplikaci, uvolňovaní monomerů z polymerních perfluorovaných látek, emise opotřebením produktů a emise z odpadů (Hekster & De Voogt, 2002).

2.5.1 Hasičská výcviková střediska a místa zásahu

Produktem, z něhož se v těchto oblastech uvolňují PFAS jsou vodné pěny vytvářející film (AFFF). Jedná se o hasičské pěny obsahující povrchově aktivní uhlovodíky i fluorovodíky, používané hlavně k hašení požárů paliv na bázi uhlovodíkových sloučenin. Nacházejí proto využití hlavně v armádě, na letištích a v hasičských výcvikových střediscích. Obsah PFAS závisí na výrobci, roku výroby a metodě použité k výrobě obsažených látek (Houtz, Higgins, Field, & Sedlak, 2013). Je tedy těžké přesně identifikovat typy látek, které se dostávají do prostředí. Je ale možné předpokládat, že se do prostředí buď přímo, rozkladem ze složitějších PFAS nebo reakcemi koncových funkčních skupin dostávají perfluoroalkylsulfonáty, perfluoroalkylkarboxyláty a perfluoroalkylové kyseliny (Barzen-Hanson et al., 2017).

K emisím může docházet při výcviku, aplikaci pěn při zásahu, kalibraci vybavení nebo nechtěným vypouštěním, například závadou na vybavení. Takto vypuštěné PFAS mohou kontaminovat půdu, povrchovou i podpovrchovou vodu.

2.5.2 Průmyslové objekty

Průmyslové objekty zahrnují primární a sekundární výrobce. Primární výrobci syntetizují PFAS. Sekundární výrobci používají PFAS k výrobě jiných produktů. Jedná se například o výrobce textilního či koženého oblečení, kteří PFAS používají jako impregnace. Historicky se může jednat o emise PFOS a PFOA, v současné době se využívají jejich náhrady s kratšími uhlíkovými řetězci (ITRC, 2018).

Z průmyslových objektů se PFAS mohou dostávat do prostředí skrze odpadní vody, úložiště odpadu nebo neúmyslným prosakováním či vylitím. Může také docházet k emisím ve spalinách. Takto vyloučené látky se mohou ukládat v půdě či povrchových vodách v okolí objektu (Davis, Aucoin, Larsen, Kaiser, & Hartten, 2007). PFAS ve spalinách se také mohou přenášet vzduchem na krátké i dlouhé vzdálenosti.

2.5.3 Skládky

Na skládkách se může vyskytovat celá řada odpadů obsahujících PFAS (Busch, Ahrens, Sturm, & Ebinghaus, 2010). Jedná se především o průmyslový odpad, spotřební zboží nebo kal z čistíren odpadních vod.

Jelikož je syntéza PFAS známá od 50.let minulého století, je velká část odpadů uložených za posledních 70 let potenciálním zdrojem emisí PFAS.

Od roku 1997 je v České republice povinné, aby skládka měla technickou či geologickou bariéru, oddělující odpad od okolního prostředí a sběr průsakové vody (MŽP, 2005). Tyto systémy by měli zabránit přímému vypouštění toxických látek ze skládky do okolí. I takový systém však nemusí poskytovat úplnou ochranu proti kontaminaci okolí a není jisté, zda skládky konstruované před rokem 1997 dosahují stejných standardů. PFAS ze skládek mohou kontaminovat hlavně okolní půdu a podpovrchovou vodu.

2.5.4 Čistírny odpadních vod

PFAS se mohou vyskytovat v odpadních vodách průmyslových objektů i domácností. Při výrobě a průmyslovém využití PFAS končí určitá část těchto látek jako odpad. PFAS se také časem uvolňují ze spotřebního zboží, například praním. V těchto případech končí látky v odpadních vodách.

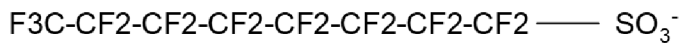
Hlavní cestou, kterou se dostávají PFAS z čistíren odpadních vod do životního prostředí je skrze přečištěné odpadní vody. V současné době totiž není možné zajistit úplné odstranění PFAS klasickými technologiemi čištění odpadních vod. Dále se mohou do prostředí dostat neúmyslnými úniky nebo skrze použití kalů pro hnojení půd (Lindstrom et al., 2011). Z toho vyplývá, že čistírny odpadních vod mohou být zdrojem pro PFAS hlavně v povrchových vodách a v půdách. Z půdy se ovšem mohou vyplavovat deštěm a dostávat se tak do povrchových a podpovrchových vod.

2.6 Transport a osud

2.6.1 Vodní prostředí

Perfluorované látky jsou nejčastěji transportovány vodou. Jsou stabilní a dobře rozpustné. Jejich struktura je polární, molekula je rozdělena na hydrofilní a hydrofobní část (Obr. 4). Hodnoty pK_a pro PFAS jsou pod 3[6], za neutrálního pH je tedy možné přepokládat, že molekuly PFAS se budou vyskytovat jako anionty ve více 99,99 % případů. Přechod z vody do

vzduchu je značně omezen, jelikož hodnoty tlaků nasycených par jsou nízké. Již popsané zdroje znečistění také ukazují, že k emisím dochází přímo do vodních útvarů. Takto emitované PFAS tedy ve vodě zůstávají a jsou přenášeny nebo dochází k jejich depozici (Barber et al., 2007; ITRC, 2018).



Obr. 4: Molekula perfluorooktansulfonátu

Záporně nabitá funkční skupina SO^{3-} je hydrofilním koncem molekuly, perfluorovaný řetězec je hydrofobní.

2.6.2 Atmosféra

Transport perfluorovaných látek vzduchem je v tuto dobu méně prozkoumaný. Koncentrace PFAS ve vzduchu je možné naměřit. Bylo dokázáno, že přímo do atmosféry se uvolňují perfluoroalkylkarboxyláty C_3-C_{14}, které vznikají termolyzí polytertrafluorethylenu. PFAS navázané na aerosoly jsou přenášené na krátké vzdálenosti a dochází k jejich depozici v okolí zdroje. Je ale také pravděpodobné, že PFAS se přenášejí i na dlouhé vzdálenosti, zde existuje několik teorií o jejich přenosu (Barber et al., 2007; ITRC, 2018).

2.6.3 Depozice

PFAS, které se vyskytují ve vzduchu mohou být součástí buď suché, či mokré depozice. Při suché depozici PFAS navázané na aerosoly mohou přecházet do půdy, či do povrchových vod pomocí procesů sedimentace, difúze, nebo sorpcí. Často dochází k asociaci se sloučeninami obsahující organický uhlík (Higgins & Luthy, 2007). Při mokré depozici dochází k vyplavování PFAS ze vzduchu deštěm. Jelikož PFAS podléhají i transportu na velké vzdálenosti, k depozicím může docházet mimo oblasti se zdrojem emisí.

Depozice PFAS obsažených ve vodě probíhá především sedimentačními a sorpčními procesy. Tyto procesy jsou ovlivněny obsahem organického uhlíku v sedimentu, pH nebo délkou řetězce PFAS. Větší délka řetězců, větší obsah organického uhlíku v sedimentu a snížení pH zvyšují

sorpci PFAS k sedimentu a zvyšují jeho ukládání (Bečanová, Komprdová, Vrana, & Klánová, 2016; ITRC, 2018).

2.7 Expozice a toxicita

Hlavní cesta expozice PFAS pro člověka je skrze trávicí trakt (Poothong, Papadopoulou, Padilla-Sánchez, Thomsen, & Haug, 2020). Dochází k ní hlavně prostřednictvím konzumace rostlin a masa, do kterých se tyto látky dostávají skrze prostředí, ve kterém se vyskytují, nebo z potravního řetězce. Různé studie dokazují, že perfluorooktansulfonáty (PFOS) a perfluorooktanová kyselina (PFOA) jsou chronicky toxické až karcinogenní. Ve vysokých dávkách mohou být až akutně toxické (Biege, Hurtt, Frame, O'Connor, & Cook, 2001). Nejnáchylnějšími orgány jsou játra a štítná žláza. Sledovanými následky požití byly zvětšení jater, snížení koncentrace cholesterolu v séru, ztráta tělesné hmotnosti a tvorba nádorů (Stahl, Mattern, & Brunn, 2011). Z těchto důvodů jsou některé PFAS regulovány Stockholmskou úmluvou (Stockholm Convention & UNEP, 2017) a Evropskou legislativou (European Commission, 2013).

2.8 Přeměna perfluorovaných sloučenin

Některé polyfluorované látky, také označované za PFAS prekurzory, se mohou bioticky i abioticky přeměňovat na PFAA. Perfluorované řetězce jsou samy o sobě velice stabilní a nepodléhají přeměně. Tyto PFAS prekurzory však kromě vazeb F-C na alkylovém řetězci obsahují také vazby C-H, a C-O. Jelikož nejsou plně fluorované, může na těchto vazbách docházet k reakcím. Tak se tvoří terminální PFAA, které jsou plně fluorované a nepodléhají dalšímu rozkladu.

2.8.1 Abiotická transformace

Hlavními abiotickými procesy, které vedou k přeměně jsou hydrolýza, fotolýza a oxidace. Sledované látky, u kterých už byla pozorována abiotická přeměna zahrnují například telomerizací vyrobené fluorotelomer alkoholy, či n-MeFOSE a n-EtFOSE, které se hojně využívaly k výrobě PFAS pomocí ECF (Hekster & De Voogt, 2002). Rychlost abiotického

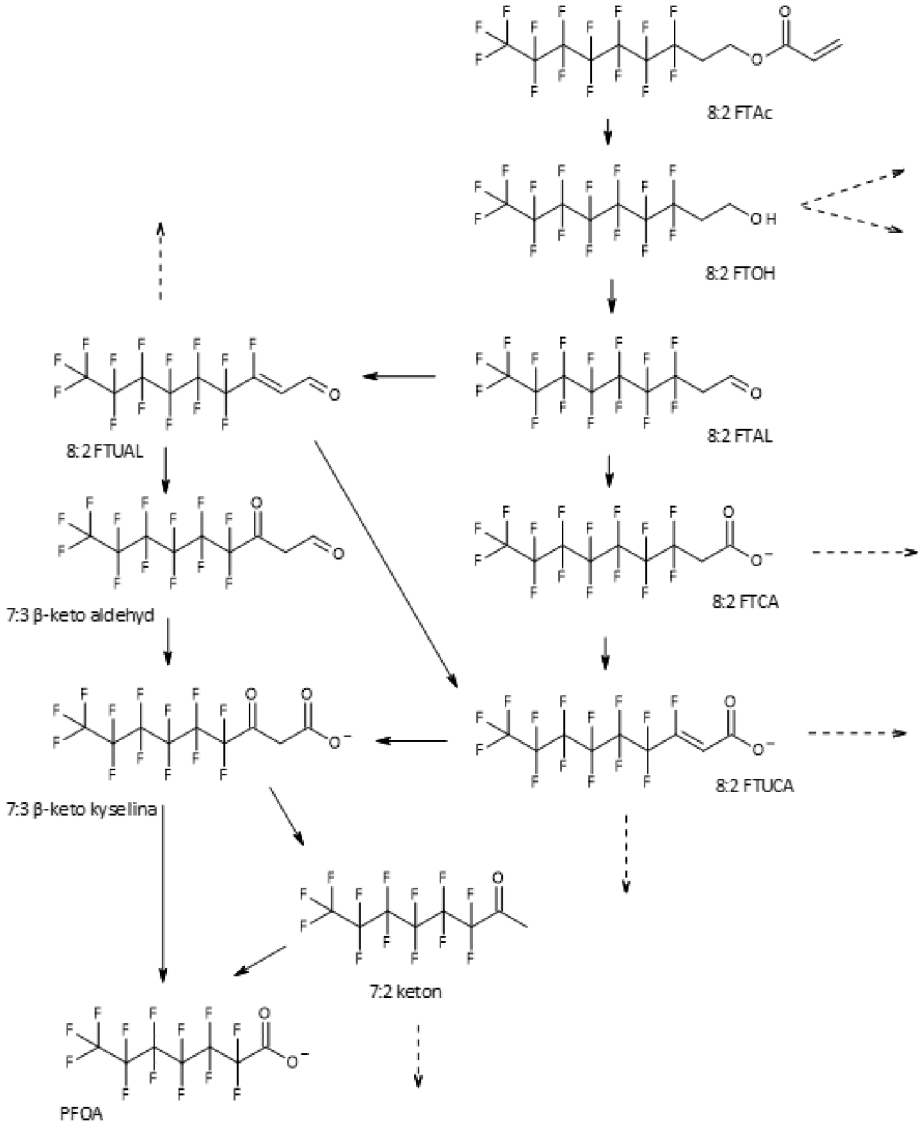
rozkladu zmíněných látek není příliš vysoká. Jedná se stále o fluorované látky, které mají silně netečné vlastnosti.

Při hydrolýze dochází k rozkladu vazeb C-O vodou při neutrálním pH. Může tak docházet k dělení například polymerních fluorotelomerních molekul za vzniku FTOH. Další rozklad FTOH končí finálními produkty typu PFCA nebo PFAA. Poločas rozpadu hydrolýzou v prostředí může být za neutrálního pH více než 55 let (Washington & Jenkins, 2015). Fotolýza probíhá u PFAS prekurzorů v atmosféře, a pouze nepřímo. Přímá fotolýza se u toho typu látek nepředpokládá. Při tomto typu fotolýzy nedochází k reakci fotonů s látkou samotnou, ale dochází k její reakci s radikály OH, popřípadě Cl, které byly excitovány fotonem. Tak dochází v atmosféře k oxidaci FTOH a vzniku PFCA (Ellis et al., 2004). K dalším oxidačním reakcím může docházet ve vodě, kde PFAS prekurzory taktéž reagují s radikály OH (Plumlee, Mcneill, & Reinhard, 2009).

2.8.2 Biotransformace

Biotransformační procesy, povětšinou hydrolytické a oxidační reakce, probíhající v živých organismech. Bylo zjištěno, že v metabolismu mikroorganismů i savců existují dráhy pro PFAS prekurzory, opět se jedná hlavně o FTOH, n-MeFOSE a n-EtFOSE. Jelikož dalším předmětem této práce je výskyt PFAS ve vodním prostředí a vodní biotě, zaměřím se však na poznatky o metabolických drahách pro PFAS a jejich prekurzory u ryb.

Nejvíce poznatků v této otázce pochází ze studia Pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss*. Obecně se nemá za to, že by se metabolické dráhy pro ryby razantně lišily od drah pozorovaných v mikroorganismech a savcích. Brandsma a kol. (Brandsma et al., 2011) potvrdili biotransformační procesy u 8:2 a 10:2 FTOH. Při jejich pokusu byly v tělech ryb detekovány FTCA, FTUCA i PFOA a PFDA. Všechny tyto látky jsou součástí metabolické dráhy FTOH a dokazují tvorbu PFCA z FTOH. Butt a kol. (Butt, Muir, & Mabury, 2010b, 2010a) připojují své poznatky z experimentů s 8:2 FTCA, 8:2 FTUCA a 7:3 FTCA. V jejich studii monitorují koncentrace mateřských sloučenin, meziproduktů i terminálních sloučenin během 17 dnů. Potvrzují, že mimo jiné, dochází v metabolismu k degradaci na PFOA. Také navrhují, že biotransformace 8:2 FTCA může fungovat podobně jako β-oxidace, zmiňují i možnost α-oxidačních reakcí v organismu.

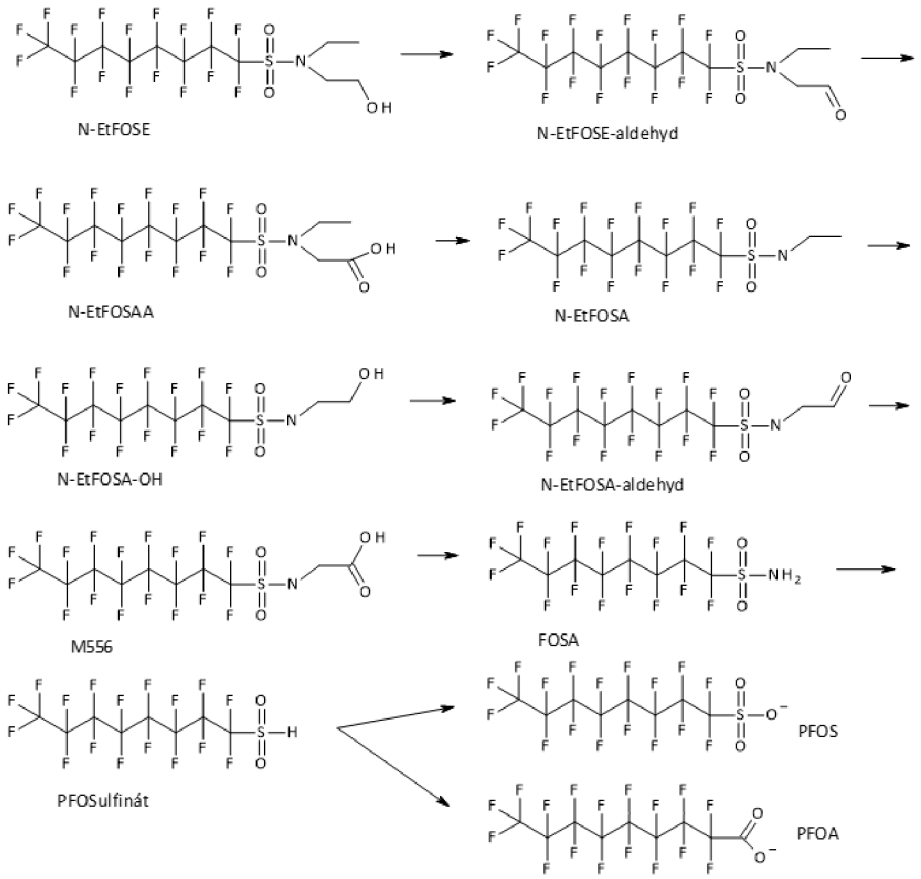


Obr. 5: Schéma potenciálních biotransformačních drah pro 8:2 FTAc a 8:2 FTCA.

Potenciální přeměny jsou vyznačené plnou čarou. Přerušované čáry znázorňují další potenciální dráhy, těmi se v této práci nezabývám. Koncovým produktem je dále nerozkladná PFOA. Adaptováno z (Mittal & Ng, 2018).

Zde se ukazují nevýhody PFAS vyrobených fluorotelomerizací. Je vidět, že fluorovaný řetězec zůstává neměnný, ale obnažený nefluorovaný konec podléhá degradačním a transformačním procesům (Obr. 5). Vznikají tak koncové produkty, většinou PFCA, zde PFOA, jejichž výroba a použití

jsou omezené legislativou a jejich přítomnost v organismech a v prostředí je dlouhodobá.



Obr. 6: Degradační dráha n-EtFOSE. Adaptováno z (Hekster & De Voogt, 2002)

Pro n-MeFOSE předpokládáme podobné degradační dráhy (Obr. 6). Stejně jako u předchozího schématu je nutné podotknout, že koncové produkty nepodléhají žádným dalším degradacím. PFAS prekurzory tedy mohou hojně přispívat k bioakumulaci PFAS, hlavně PFOS a PFOA v organismech.

2.9 Bioakumulace

U ryb pozorujeme dvě hlavní cesty expozice perfluorovaným sloučeninám. První cestou je požití PFAS skrze konzumovanou potravu, druhou cestou je přechod z okolní vody. Bioakumulaci definujeme jako proces hromadění polutantů v tkáních organismů. Zahrnuje všechen příjem

z potravy i prostředí. Omezením šíře příjmu polutantů pouze na látky, které do organismu přechází z okolního prostředí lze definovat biokoncentraci. Třetím důležitým pojmem je biomagnifikace. Jedná se o proces hromadění polutantů v organismech vyšších trofických úrovní skrze potravní řetězec. Perfluorované látky se svým bioakumulativním chováním liší od ostatních studovaných polutantů. Narozdíl od jiných POP se neváží na tuky, ale na proteiny (Smith et al., 2016). Hydrofobní vlastnosti perfluorovaného řetězce a silná polarita koncové funkční skupiny činí jejich chovaní vůči proteinům podobné mastným kyselinám a dochází k hydrofobním a iontovým interakcím (Liu, Fang, Xu, & Chen, 2019). Nejvyšší koncentrace byly pozorovány v játrech, krvi, či v ledvinách (Smith et al., 2016). U zvířat také sledujeme ukládání ve svalové hmotě, takto dochází k biomagnifikaci na vyšších trofických úrovních (Smith et al., 2016). Pro popis míry bioakumulace u jiných POP se standardně jako reference používá rozdělovací koeficient oktanol-voda K_{ow} (Xia et al., 2019). Jelikož log K_{ow} je možné interpretovat jako míru hydrofobicity látek, v organismech simuluje míru afinity k lipidům a může být indikativní jejich schopnosti akumulace. PFAS ale netvoří vazby s lipidy. Proto je třeba určit jejich bioakumulační potenciál popsat přímo, stanovením bioakumulačního, biokoncentračního, popřípadě biomagnifikačního faktoru.

Z definic mluvíme o akumulačních procesech při BAF, BCF, BMF> 1. Legislativa však považuje za bioakumulativní látky takové, které mají mnohonásobně vyšší bioakumulačním koeficient. Například pro Evropskou legislativu musí být BAF větší než 2000 l/kg (Smith et al., 2016).

2.9.1 Biokoncentrační faktor

Biokoncentrační faktor je popsán jako přechod látky mezi abiotickým prostředím, například vodou, a organismem. Definujeme ho jako poměr koncentrací v organismu C_B a koncentrace ve vodě C_w v ustáleném stavu, nebo jako poměr příjmu k_1 a výdeje látky k_{-1}. Pro určení BCF je nutné zamezit příjmu z potravy, je tedy možné pracovat pouze za laboratorních podmínek. Předpokládáme, že při konstantní koncentraci sledované látky ve vodě, se v čase koncentrace v biotě přiblíží konstantní hodnotě ustáleného stavu. BCF > 1 indikuje, že koncentrace v biotě je větší než v okolním médiu, tudíž můžeme říct, že se látka biokoncentruje (Garber & Sappington, 2009) (1).

$$BCF = \frac{C_B^{\infty}}{C_W^{\infty}} = \frac{k_1}{k_{-1}} \tag{1}$$

2.9.2 Bioakumulační faktor

Bioakumulační faktor je ukazatel tendence chemických látek se hromadit v živých organismech. Je definován jako poměr koncentrace látek v biotě C_B a v abiotickém okolí, např. ve vodě C_W. Standardně se udává v l/kg. Zahrnuje v sobě akumulaci z prostředí i z potravy a lze ho použít při laboratorních i terénních experimentech, jelikož neklade důraz na druh příjmu. Interpretace BAF u PFAS je lehce složitá, jelikož není možné dělat korekci na vázanou tkáň. Při studiu POP vázajících se na lipidy je možné přímo porovnávat BAF mezi tkáněmi a organismy na základě udání koncentrace vztažené na hmotnost lipidů. Nedostatečná znalost vazebných interakcí PFAS a proteinů nám takové porovnání neumožňuje. Z tohoto důvodu je komplikované určit, zda se u vyšších trofických úrovni jedná striktně o biomagnifikaci nebo jsou koncentrace odlišné na základě rozdílu mezi organismy a tkáněmi (Haukås, Berger, Hop, Gulliksen, & Gabrielsen, 2007) (2).

$$BAF = \frac{C_B}{C_W} \tag{2}$$

2.9.3 Biomagnifikační faktor

Biomagnifikační faktor se používá pro popis akumulace látek skrze potravní řetězec. Kvantifikuje se jako poměr koncentrací v biotě C_B na trofické úrovni *n* a na úrovni *n+1*. Pozorovaný efekt je zvyšování koncentrace POP v tkáni organismů vyšších trofických úrovní. BMF > 1 potvrzuje biomagnifikační proces (Garber & Sappington, 2009) (3).

$$BMF = \frac{C_B\,(TL = n + 1)}{C_B(TL = n)} \tag{3}$$

2.10 Faktory ovlivňující bioakumulaci

Velikost bioakumulace pro jednotlivé sloučeniny může být ovlivněna mnoha faktory. Jedná se hlavně o vlastnosti sloučenin, vlastnosti prostředí a vlastnosti organismu. Z důvodu nízkého pK_a pro perfluorované kyseliny se většina z nich ve vodním prostředí vyskytuje jako anionty. Často se tedy hodnoty BCF a BAF udávají pro karboxyláty (Conder, Hoke, De Wolf, Russell, & Buck, 2008). Za faktory ovlivňující bioakumulaci můžeme považovat i rozdílnou fyziologii ryb a jiných organismů, např. savců. V této práci se však zaměřuji na rozdíl mezi rybami, jelikož porovnávám bioakumulační potenciály pouze v rámci vodního prostředí.

2.10.1 Vlastnosti látek

(1) Délka fluorovaného alifatického řetězce

Jedním ze závěrů studie Conder a kol. je potvrzení, že u perfluorovaných kyselin závisí BCF a BAF na délce perfluorovaného řetězce. U látek relevantních v životním prostředí, 4-13 uhlíků, sledují největší bioakumulační potenciál u perfluorododekanoátu, PFDo (11 fluorovaných uhlíků), a perfluorotertradekanoátu, PFT (13 fluorovaných uhlíků). Pro sloučeniny s krátkým řetězcem (4-6 atomů uhlíku) existuje málo dat, v mnoha studiích totiž nebyly vůbec detekovány. Zvýšený bioakumulační potenciál kyselin s delším fluorovaným řetězcem se ukázal u ryb i u savců (Conder et al., 2008). Studie (Martin, Mabury, Solomon, & Muir, 2003) navrhuje, že PFAS se stávají součástí tzv. enterohepatické recirkulace, procesu kdy jsou polutanty recyklovány mezi krví, játry, žlučníkem a střevy, kde dochází k resorpci skrze vrátnicovou žílu. I u tohoto procesu dochází k rozlišení na základě délky řetězce. U delších řetězců byla sledována vyšší resorpční kapacita než u sloučenin s kratším řetězcem. Nižší sorpční kapacita znamená menší pravděpodobnost zachycení v recyklačním procesu a vyšší pravděpodobnost vyloučení.

(2) Rozdílné koncové funkční skupiny molekul PFAS

Dalším ze závěrů studie od Martin a kol. (Martin et al., 2003) byl poznatek, že perfluoroalkylsulfonáty mají BCF a BAF srovnatelný s faktory perfluorokarboxylových kyselin s vyšším počtem uhlíků v perfluorovaném řetězci. Sledují rychlejší příjem i pomalejší depurace. Tento poznatek

dále potvrzují Conder a kol. (Conder et al., 2008). Proč mají sulfonáty větší bioakumulační potenciál než karboxylové kyseliny se stejným počtem perfluorovaných uhlíků není jasné, ale studie Jones a kol. (Jones, Hu, De Coen, Newsted, & Giesy, 2003) demonstruje silnější vazby PFOS a delších PFCA k proteinům. Síla a priorita ve vazbách na proteiny by mohla být indikátorem bioakumulace pro PFAS. Martin a kol. také zaznamenávají roli funkčních skupin při resorpci v procesu enterohepatické recirkulace. Sledují vyšší resorpční kapacity pro sulfonáty, tedy vyšší retenci v organismu.

2.10.2 Vlastnosti organismu

(1) Velikost

Závislost bioakumulačního potenciálu na velikosti ryb popisují ve své studii Pan a kol. (Pan et al., 2014). Při studiu tilapií na jihu Číny popisují závislost délky a váhy na koncentraci PFAS v organismu. Pro PFOS a PFCA s dlouhým perfluorovaným řetězcem, 11-14 C, evidují vyšší koncentrace u delších a těžších ryb. Hlavní rozdíly zaznamenávají pro koncentrace v játrech a svalech. Pan a kol. předpokládají, že se koncentrace zvyšují na základě většího příjmu z potravy.

(2) Věk

Závislost věku organismu na bioakumulaci PFAS není prozkoumána. S jedinou hypotézou přicházejí Martin a kol. (Martin et al., 2003) ve své studii o bioakumulaci PFAS v nedospělých pstruzích duhových. Spekulují, že mladí pstruzi ještě nemají dráhy pro aktivní vylučování perfluorovaných látek, které se mezitím asimilují v enterohepatické recirkulaci. Pro látky s kratším perfluorovaným řetězcem, PFOS, PFNA a PFDA, potvrzují tuto hypotézu Babut a kol. (Babut et al., 2017).

(3) Pohlaví

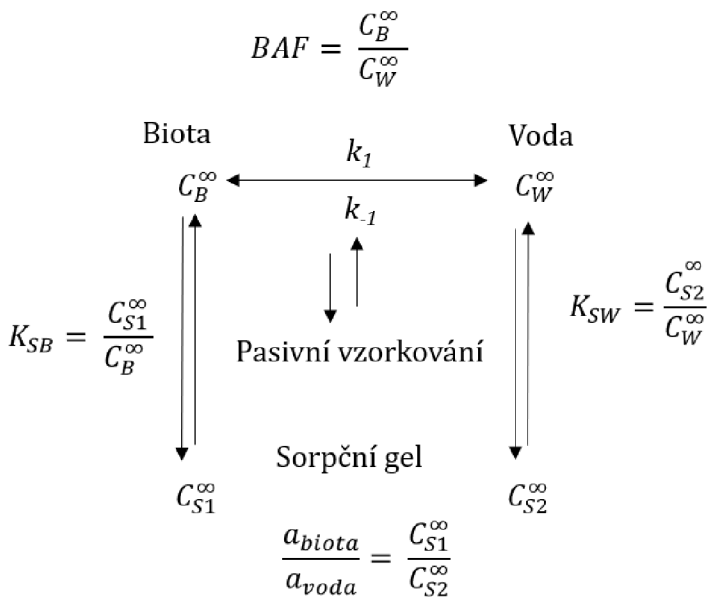
Pan a kol. (Pan et al., 2014) sledují rozdíl pro koncentrace PFAS na základě pohlaví pouze pro PFNA, PFTeDA a PFDS. U všech tří látek byla pozorována větší koncentrace u samců tilapie. Důvod pro rozdíl v koncentracích Pan a kol. nepopisují a pro další látky nenašli významné rozdíly mezi samci a samicemi. Studie porovnávající koncentrace PFAS na základě pohlaví pro některé vodní savce (Ahrens, Siebert, & Ebinghaus,

2009; Kannan et al., 2005) také dochází k závěru, že pohlaví neovlivňuje významně bioakumulační potenciál. Je však otázkou, zda je v tomto případě možné aplikovat poznatky o jiných organismech na ryby.

3 Posouzení vhodnosti metody pasivního vzorkování PFAS

3.1 Cíl praktické části

Použití metody pasivního vzorkovaní k monitorování bioty i vody by mohlo přinést nové možnosti kvantifikace a popisu bioakumulačního chování PFAS (Obr. 7). Nejprve je však nutné posoudit, zda metoda dává adekvátní data. Je nutné ji porovnat se standardně používanými postupy. Posouzení vhodnosti metody je cílem praktické části této práce.



Obr. 7: Schéma použití metody rovnovážného pasivního vzorkování ke sledování bioakumulace PFAS z vody do vodních organismů (biota).

V přírodě dochází k výměně PFAS mezi biotou (např. rybami nebo jinými vodními živočichy) a vodou do ustálení jejich koncentrací C_B a C_W v rovnovážném stavu. Definujeme rychlostní konstanty příjmu k_1 a vyloučení k_{-1} látky do/z vodního organismu. Použitím metody pasivního vzorkování dokážeme stanovit koncentrace PFAS ve vodě i v biotě. Námi navržená metoda využívá difuzního gradientu mezi sorpčním gelem a monitorovanou matricí, kde také časem dochází k ustálení rovnováhy. Definujeme rovnovážné konstanty v systému sorbent-biota K_{SB} a sorbent-voda K_{SW}. Koncentrace PFAS ve sledovaných matricích C_B a C_w korespondují v rovnováze s koncentracemi v sorpčním gelu

C_{S1}^{∞} a C_{S2}^{∞}. Podíl koncentrací v sorpčním gelu pak vyjadřuje i podíl chemické aktivity (a_{biota} a a_{voda}) PFAS v obou sledovaných matricích. Rovnost C_{S1}^{∞} a C_{S2}^{∞} znamená, že PFAS je v termodynamické rovnováze v systému biota-voda. Bioakumulační a biokoncentrační faktory BAF vypočítané z koncentrací stanovených ve vodě a biotě lze pak interpretovat i z termodynamického hlediska a využít k sledování různých jevů, např. trofické biomagnifikace a podobně.

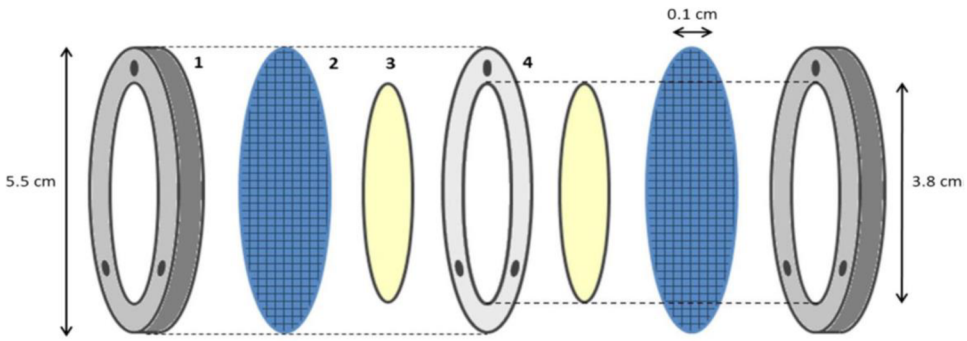
3.2 Materiál a metody

Pro stanovení koncentrace PFAS v prostředí byla použita metoda pasivního vzorkování na základě článku od Uríka a Vrany (Urík & Vrana, 2019). Vzorkovač je složen ze dvou sorpčních disků, vložených mezi dva difuzní disky vyztužené nylonovou síťkou. Tyto vrstvy jsou upevněny dvěma kroužky z nerezové oceli (Obr. 8, Obr. 9). Takto složený vzorkovač dokáže díky difuzním gradientům adsorbovat polární organické sloučeniny jako jsou například některé PFAS. Tento typ vzorkovače byl kalibrován pro 11 perfluoroalkylových sloučenin (Urík & Vrana, 2019).

3.2.1 Příprava vzorkovačů

Difuzní gel byl připraven z 1,5 g agarózy a 100 ml destilované vody. Takto připravená suspenze byla zahřáta na teplotu 90 ^{0}C. Za stálého míchaní byla udržována konstantní teplota, dokud se všechna agaróza nerozpustila a roztok se nestal čirým. Jako forma k přípravě gelu sloužily dvě skleněné desky, oddělené dvěma kusy mezerníku, které zajistily tloušťku gelu 0,1 cm. Do vrstvy gelu byla zalita nylonová síťka, předčištěná acetonem v ultrazvukové lázni, aby se zvýšila jeho pevnost. Za laboratorní teploty, popřípadě pod proudem studené kohoutkové vody agarózový gel ztuhnul. V tento okamžik mohl být vyndán z formy a nastříhán do potřebné velikosti.

Pro přípravu sorpčního gelu bylo použito 5 g předčištěného sorbentu Oasis HLB, 100 ml vody a 1,5 g agarózy. Další kroky přípravy jsou shodné s přípravou difuzního gelu, kromě přidání nylonové síťky, která se v sorpčním gelu nenachází. Tloušťka sorpční vrstvy je taktéž 0,1 cm.



Obr. 8: Schéma pasivního vzorkovače

Mezi dva ocelové kruhy (1) jsou vloženy dvě vrstvy difuzního gelu (2) a dvě vrstvy sorpčního gelu (3).

Obr. 9: Fotografie složeného vzorkovače

3.3 Rozmístění a sběr vzorkovačů

Pro projekt byly vybrány čtyři lokality na řece Moravě v okolí Uherského Hradiště (Obr. 10). Vzorkovače byly umístěny ve skupinách po čtyřech, v korytu řeky, v malé vzdálenosti od břehu, v hloubce cca 1 m pod hladinou ve vodním sloupci. U dna byly zatíženy závažím a označeny bójí, která vzorkovače udržovala ve vznosu. V každé lokalitě byly exponovány čtyři vzorkovače, všechny upevněné na ocelový držák. Při rozmístění vzorkovačů bylo třeba se vyvarovat směšovacích zón toků s bodovými zdroji znečištění a zajistit vzorkovače před mechanickým poškozením. Ve všech lokalitách bylo změřeno pH, vodivost a teplota vody (VTW Multi 3410 Set B, Německo). Byla změřena teplota vzduchu a byl proveden odběr vzorku vody.

Lokality pro vzorkování byly vybrány podle následujícího klíče. Lokalita „Jarošov“ se nachází před městem Uherské Hradiště, v okolí se nenachází evidentní zdroje znečistění. Předpokládáme tedy nižší koncentrace polutantů. Lokalita „Nad ČOV“ se nachází na konci průtoku řeky městem těsně nad vyústí místní čistírny odpadních vod. Z města se mohou do řeky vymývat polutanty, popřípadě některé mohou být vypouštěny ve vyčištěné odpadní vodě. Předpokládáme tedy vyšší koncentrace polutantů. V blízkosti se také nachází mrtvé rameno Čerťák. Tato lokalita je ekologický zatížená přilehlými objekty starého cukrovaru a firmy Colorlak, výrobce barev a nátěrových hmot. Nachází se zde i skládky komunálního a stavebního odpadu. Všechny tyto objekty jsou potenciálními zdroji znečištění (Filipská, 2009). Lokalita „Most E50“ se nachází dále po proudu pod vyústí čistírny odpadních vod. Ta je jasným bodovým zdrojem znečištění, otázkou zůstává, jestli ve vyčištěné odpadní vodě zůstávají nerozložené zbytky PFAS. Zde by očekávané koncentrace sledovaných PFAS měli být nejvyšší. V poslední lokalitě „Kostelany“ by se koncentrace měla oproti předchozím dvěma lokalitám lehce snížit vlivem ředícího účinku vody v hlavním toku řeky. Odběrové místo se nachází 4 km po proudu od čistírny a v jejím okolí nepředpokládáme žádný velký zdroj znečištění.

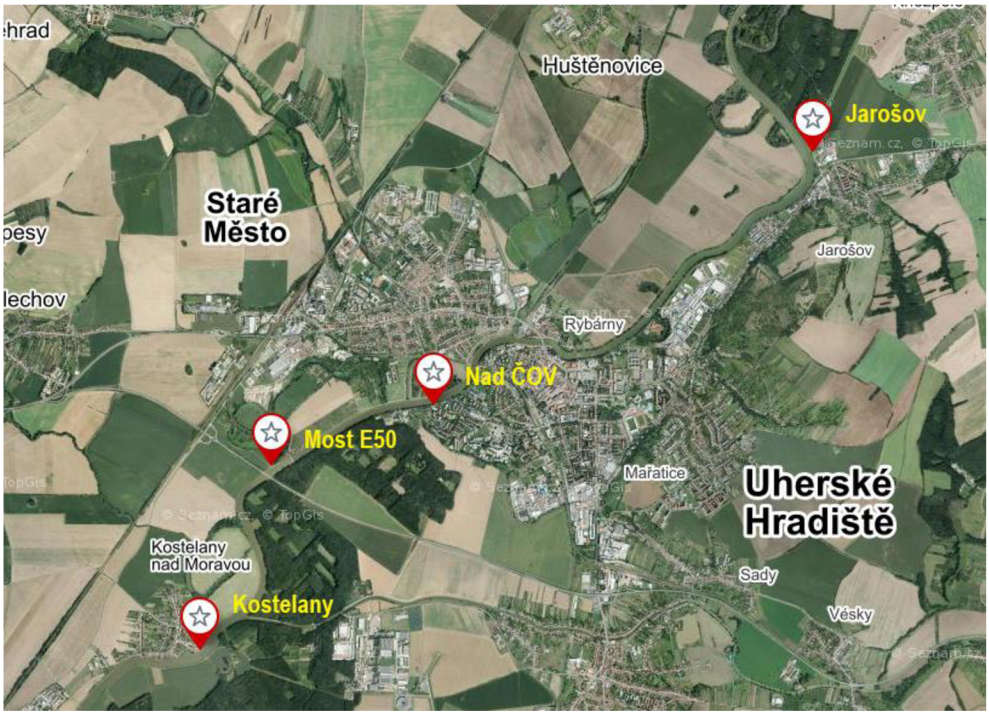
Rozmístění vzorkovačů proběhlo dne 14/06/2019, jejich sběr proběhl dne 28/06/2019. Doba expozice dva týdny je optimální pro tento typ gelových vzorkovačů. Při setrvání ve vodě po dobu delší než dva týdny, se mohou gelové vrstvy rozkládat. Při sběru byly vzorkovače v lokalitě Kostelany nalezeny znehodnoceny vytažením z vody cizí osobou. Tato skupina vzorkovačů byla z projektu vyřazena (Tab. 1,Tab. 2).

Tab. 1: Rozmístění pasivních vzorkovačů

Lokalita	Zeměpisná délka	Zeměpisná šířka	Datum	Čas	Teplota vody (^{0}C)	Vodivost (µS/cm)	Teplota vzduchu (^{0}C)
Jarošov	49,0907	17,4971	14/6/2019	11:30	24,5	447	27
Nad ČOV	49,0672	17,4433	14/6/2019	12:30	24,5	407	27
Most E5O	49,0615	17,4203	14/6/2019	13:30	24,6	401	31
Kostelany	49,0444	17,4101	14/6/2019	14:30	24,6	401	31

Tab. 2: Sběr pasivních vzorkovačů

Lokalita	Zeměpisná délka	Zeměpisná šířka	Datum	Čas	Teplota vody (°C)	Vodivost (µS/cm)	Teplota vzduchu (°C)
Jarošov	49,0907	17,4971	28/6/2019	10:20	24	450	23
Nad ČOV	49,0672	17,4433	28/6/2019	11:10	25	450	26
Most E50	49,0615	17,4203	28/6/2019	12:10	25	450	24
Kostelany	49,0444	17,4101	28/6/2019	XXXX	25	457	25



Obr. 10: Mapa lokalit na řece Moravě

3.4 Zpracování vzorků

3.4.1 Extrakce PFAS ze vzorků sorpčního gelu

Po vyzvednutí z vody byly všechny vzorkovače rozebrány a vrstvy sorpčního gelu byly vyjmuty a jednotlivě uloženy při -80 °C. Ostatní části vzorkovače, tj. kovové části a difuzní gely, nebyly analyzovány. Sorpční gel se sušil v laboratorním lyofilizátoru (Gregor instruments. L10-55 Pro,

Česká republika) při -40 ^{0}C a 0,075 hPa, za těchto podmínek dojde k šetrnému vysušení vzorku sublimací vody. Vysušený gel se zvážil, následovala extrakce sledovaných perfluorovaných látek. Extrakce byla prováděna pomocí 99,8% metanolu na třepačce (GFL 3017, Německo) po dobu 24 hodin a opakována dvakrát. Ke vzorkům byl nejdříve přidán roztok vnitřních standardů PFAS značených stabilním izotopem ^{13}C. Standardy slouží k určení výtěžnosti extrakce PFAS (8 ng/vzorek). Následně byly oba extrakty spojeny. Metanol ze všech vzorků byl odpařen pod proudem čistého dusíku, nádoby byly vymyty metanolem, roztok přefiltrován a standardizován na objem 1 ml. 0,5 ml těchto vzorků se těsně před laboratorní analýzou naředí 0,5 ml octanem amonným (≥99%).

3.4.2 Extrakce PFAS ze vzorků vody

Vzorky vody byly sesbírány společně s pasivním vzorkováním ve stejných lokalitách. Voda byla odebrána přímo do polykarbonátových vzorkovnic (Nalgen). Polykarbonát byl použit z důvodu zamezení kontaminace vzorků a sorpce PFAS na stěny vzorkovnice. Vzorky vody byly zváženy a byl zjištěn jejich objem. Separace perfluorovaných látek z těchto vzorků proběhla pomocí extrakce na tuhou fázi (SPE) (VARIAN INC., n.d.). Byly použity kolonky s tuhou fází Oasis WAX. Extrakce probíhá v následujících krocích.

a) Upravení vzorku na pH 3-5 pomocí kyseliny chlorovodíkové.
    - Tento krok zaručuje vyšší selektivitu extrakce pro PFAS.
b) Příprava sorbentu 2 ml metanolu, 2 ml vody
c) Dávkování vzorku vody o objemu 100 ml
d) Vymývání vzorku 1 ml 2% kyseliny mravenčí.
    - Kyselina vymývá interferující látky. PFAS zůstávají navázané na sorpční vrstvu.
e) Vymývání 2 ml metanolu.
    - Odstranění dalších interferujících látek
f) Eluce 1% roztokem amoniaku v metanolu (99,8%).
    - Tento roztok neutralizuje místa iontové výměny na sorbentu. PFAS jsou v tomto kroku uvolněny do roztoku.

Metanol z eluátu byl odpařen proudem dusíku. Získaný vzorek byl rozpuštěn v metanolu a filtrován. Objem filtrátu byl upraven na 1ml. 0,5 ml tohoto vzorku bylo přidáno k 0,5 ml octanu amonného. Takto upravený vzorek byl připraven k laboratorní analýze. Všechny vzorky látek ze vzorkovačů i vzorky vody byly vyhodnoceny v akreditované laboratoři RECETOX pro všechny PFAS z Tab. 3.

Tab. 3: Sledované perfluorované látky, *vzorkovací rychlosti pasivního vzorkovače při 25 ^{0}C (Urík & Vrana, 2019)

Látka (CAS)	Název	R_s ± SD* (ml.den^{-1})
PFPA (2706-90-3)	Perfluoropentanová kyselina	28.8 ± 3.7
PFHxA (307-24-4)	Perfluorohexanová kyselina	72.3 ± 9.9
PFHpA (375-85-9)	Perfluoroheptanová kyselina	90.1 ± 10.5
PFOA (335-67-1)	Perfluorooktanová kyselina	48.3 ± 1.5
PFNA (375-95-1)	Perfluorononanová kyselina	40.3 ± 1.3
PFDA (335-76-2)	Perfluorodekanová kyselina	24.6 ± 0.7
PFDoDA (307-55-1)	Perfluorododekanová kyselina	4.9 ± 0.2
PFTrDA (72629-94-8)	Perfluorotridekanová kyselina	1.9 ± 0.1
PFBS (375-73-5)	Perfluorobutansulfoniová kyselina	24.8 ± 0.6
PFHxS (355-46-3)	Perfluorohexansulfoniová kyselina	72.0 ± 1.9
PFOS (1763-23-1)	Perfluorooktansulfoniová kyselina	37.8 ± 1.2

3.5 Instrumentální analýza

Vybrané PFAS byly separovány, identifikovány a kvantifikovány použitím kapalné chromatografie a hmotnostní spektrometrie pomocí Agilent 1290 Infinity II a AB Sciex QTRAP 5500 hmotnostního spektrometru s negativní elektrosprejovou ionizací (ESI-). Separace probíhala na Phenomenex Synergi Fusion RP 80 Ä 50 mm x 2 mm koloně a 4 x 2 mm Phenomenex předkoloně. Všechny analyty byly rozpuštěny v gradientu dvou mobilních fází. Fáze A, metanol a 5mM octan amonný ve vodě. Fáze B, metanol. Rychlost průtoku byla 200 µl/min. Dávkovaný objem vzorku

byl 10 µl (Šverclová, 2019). Pro získání detailnějšího popisu procesu je možno využít příslušnou literaturu (Karásková et al., 2016).

3.6 Zajištění a řízení kvality

Během projektu provádíme dva typy kontroly vzorkovací metody (Vrana et al., 2016) a kontrolu výtěžnosti extrakce na třepačce. Jedná se o procesy, pomocí kterých zjistíme případné koncentrace sledovaných látek ve vzorkovačích, či látkách a předmětech použitých při přípravě.

3.6.1 Terénní kontrola

Vzorkovače jsou identické s těmi určenými k expozici. Pro terénní kontrolu jsou ovšem vystaveny prostředí při transportu a přípravě vzorkovačů v lokalitě umístění. Děje se tak z důvodů možné kontaminace vzorků při transportu a umisťování vzorkovačů do vody.

3.6.2 Procesní kontrola

U tohoto typu kontroly se nevyužívají vzorkovače. Hodnotí se pouze proces laboratorního zpracování vzorků po jejich vyzvednutí. Zde může dojít k navýšení koncentrace sledovaných látek v důsledku jejich uvolnění z použitých nástrojů, či činidel.

3.6.3 Určení výtěžnosti

Při extrakci metanolem na třepačce jsou do některých vzorků gelu přidány izotopicky značené standardy sledovaných látek. Z extrahovaného množství standardů se určuje výtěžnost reakce. Lze takto upravit výsledky o množství sledovaných látek, které nebylo možno extrahovat v důsledku nižší výtěžnosti.

3.7 Zpracování dat

Cílem měření bylo vyhodnotit koncentraci jednotlivých sledovaných látek ve vodním prostředí pro čtyři zvolené lokality. Pro stanovení byla zvolena metoda pasivního vzorkování a bodových odběrů vzorků vody.

Výsledky i směrodatné odchylky byly zaokrouhleny na jedno desetinné místo. Bylo tak učiněno na základě citlivosti metody.

3.7.1 Pasivní vzorkovače

Data z laboratorní analýzy uvádějí koncentrace pro všechny látky ve formě ng(látky)/g(sorbentu vzorkovače). Po lyofilizaci vzorkovačů byla pro každý vzorek změřena hmotnost sušiny. Tento údaj sloužil k převedení dat do formy ng/g sorbentu vzorkovače. Pro všechny lokality byla vypočítaná průměrná koncentrace sledovaných látek, v ng/hm. vzorkovače, počet měření n=4. Byla spočítána i směrodatná odchylka. Koncentrace ve vodě byla určena v ng/l ze vzorce (Tab. 4).

$$C_w = \frac{N}{R_s t} \tag{4}$$

Kde C_w je koncentrace ve vodě, N je průměrné množství sledované látky ve vzorkovači (ng/vzorkovač) po jeho expozici na vzorkované lokalitě, t je doba vystavení vzorkovače ve dnech a R_s je vzorkovací rychlost (L/d), z Tab. 3. Data z lokality Kostelany byla vyřazena kvůli ztrátě vzorkovačů. Odhad směrodatné odchylky pro koncentraci C_w byl vypočítán pomocí zákona o šíření chyb pro f= A/B.

$$SD = C_w \sqrt{\left(\frac{SD(A)}{A}\right)^2 + \left(\frac{SD(B)}{B}\right)^2} \tag{5}$$

V tomto vzorci A=N, B=R_s (4). SD jsou směrodatné odchylky pro dané veličiny. Pro dobu expozice vzorkovače t (4) předpokládáme, že není zatížená významnou chybou (Tab. 4).

Tab. 4: Výsledné hodnoty pro rovnovážné pasivní vzorkovaní ve vodě

Látka	R_s (L den^{-1})	t(dny)	Lokalita	N±SD (ng)	C_w ± SD (ng.l^{-1})
PFOS	0,0378	14	Jarošov	6,2 ± 1,9	11,7 ± 0,3
			Nad ČOV	3,8 ± 1,4	7,1 ± 0,4
			Most E50	3,9 ± 0,2	7,4 ± 0,1
PFHxS	0,072	14	Jarošov	2,1 ± 0,5	2,0 ± 0,2
			Nad ČOV	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,1
			Most E50	1,6 ± 0,5	1,5 ± 0,3

3.8 Bodové odběry vody

Pro odběry vody byl vypočítán objem vzorku z jeho hmotnosti a hustoty. Koncentrace sledovaných látek byla přepočítána na ng/l. Koncentrace pro jednotlivé lokality byla vypočítána jako průměr koncentrací ve vzorcích, pro Nad ČOV n=8, Jarošov n=2 a Most E50 n=2 (Tab. 5). Data odběrů jsou pod čísly vzorků. Všechny vzorky byly pořízeny v roce 2019.

Tab. 5: Výsledné hodnoty pro bodové odběry vody

Látka	Lokalita	Odběr 1 (ng.l^{-1}) 14.6	Odb. 2 17.6	Odb.3 19.6	Odb.4 21.6	Odb.5 23.6	Odb.6 25.6	Odb.7 27.6	Odb.8 28.6	Průměr ± SD (ng.l^{-1})
PFOS	Jarošov	6,6	x	x	x	x	x	x	6,5	6,6 ± 0,1
	Nad ČOV	6,7	13,2	5,3	7,8	5,9	11,9	10,7	8,6	8,8 ± 2,9
	Most E50	6,4	x	x	x	x	x	x	8,0	7,2 ± 1,2
PFHxS	Jarošov	1,4	x	x	x	x	x	x	1,3	1,3 ± 0,1
	Nad ČOV	1,2	1,9	1,6	1,4	1,4	2,0	1,8	1,5	1,6 ± 0,3
	Most E50	1,4	x	x	x	x	x	x	2,2	1,8 ± 0,5

3.9 Diskuse

3.9.1 Kontaminace vzorků

K zaručení správnosti výsledků byly použita opatření pro kontrolu kvality. Pro pasivní vzorkování proběhla ve všech lokalitách čtyři měření. Pro odběry vody proběhla nejméně dvě měření, v případě lokality Nad ČOV proběhlo měření osm. Kontaminace při procesu přípravy, rozmístění a zpracování vzorků byly sledovány pomocí procesních a terénních slepých vzorků. Při vyhodnocení dat byly za kontaminované považované vzorky pro látky, kde podíl průměrné koncentrace terénních slepých vzorků N_{fb} a průměrné koncentrace ve vzorkovači N_{vz} nepřevýšil 10 % (6).

$$\frac{N_{fb}(terénních\ blanků)}{N_{vz}(vzorkovač)} < 10\ \% \qquad (6)$$

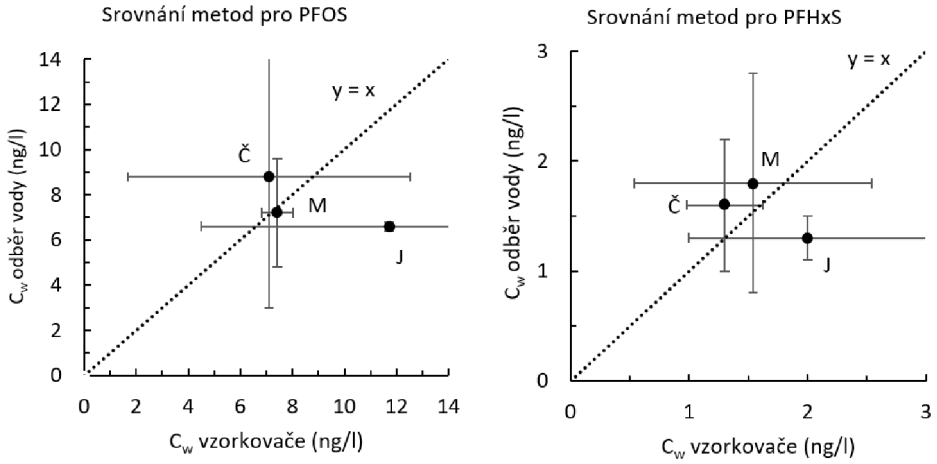
Z důvodu kontaminace, musely být na základě předchozího pravidla (6) odstraněny z výsledků data pro PFPA, PFHxA, PFHpA, PFHpA, PFNA, PFDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA (Tab. 3). Předpokládá se kontaminace při zpracování vzorků. S největší pravděpodobností byly vzorky kontaminovány elučními a vymývacím roztoky, které obsahovaly jisté koncentrace sledovaných látek. Jako nekontaminované se ukázaly data pro PFOS a PFHxS. Koncentrace pro PFUnDA, PFBS, PFHpS, PFDS, PFBA byly pod mezí detekce, nebo nebyly přítomny vůbec.

3.9.2 Srovnání použitých metod

Pro porovnání metod pasivního vzorkování a bodových odběrů vody byl použit t-test pro dva nezávislé výběry za předpokladu, že variabilita obou výběrů je srovnatelná. Byla zvolena hladina významnosti P = 0,05. Pro všechny lokality byla rozdílnost mezi metodami t-testem určena jako statisticky nevýznamná.

V grafech je znázorněná závislost výsledků pomocí vzorkovací metody na výsledcích bodových odběrů vody v jednotlivých odběrových lokalitách. Tečkovanou čarou je označena osa x=y, která indikuje shodnost výsledků měření získaných oběma metodami. Počet měření použitý pro výpočet směrodatné odchylky a průměru pro metodu pasivního vzorkovaní byl n=4. Pro bodové odběry se počet liší v jednotlivých lokalitách,

Nad ČOV (Č) n=8, Jarošov(J) n=2, Most E50(M) n=2. Pro každý bod jsou v grafu znázorněny chybové úsečky velikosti ±2SD. Jestliže chybové úsečky protínají osu x=y, lze předpokládat, že rozdíl mezi metodami není statisticky významný. Výstup z grafu tedy potvrzuje závěr z t-testu (**Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).



Obr. 11: Srovnání metod, grafické znázornění

Označení lokalit: Nad ČOV (Č), Jarošov (J), Most E50 (M). Detailní popis grafů se nachází v kapitole 3.9.2.

3.9.3 Výhody metody pasivního vzorkování pro určení koncentrací PFAS ve vodě

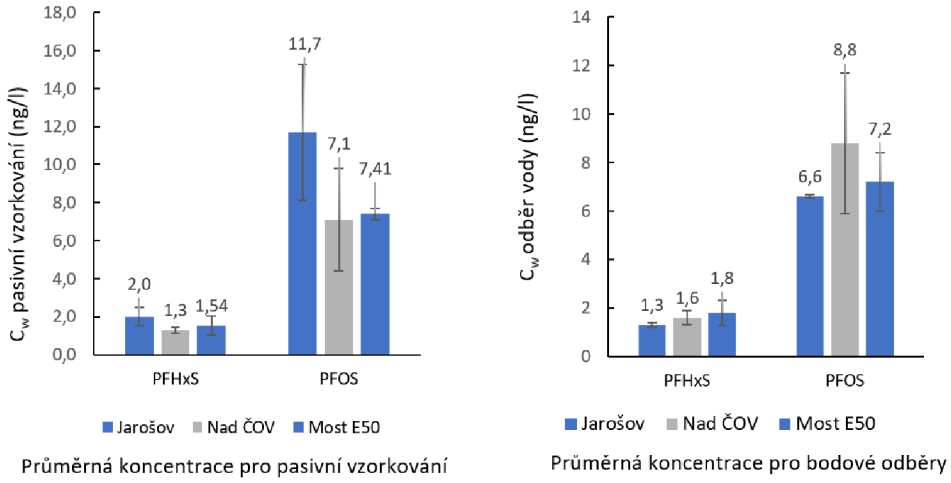
Na základě t-testu a grafického znázornění se ukázalo, že sledované metody bodového a pasivního odběru vzorků poskytují výsledky, které od sebe nejsou statisticky odlišné. Oproti bodovým odběrům má však pasivní vzorkování několik výhod. Zaprvé, se v sorpčním gelu, který je součástí vzorkovače, zachytí větší množství sledovaných látek a jejich stanovení je potom jednodušší, jelikož pracujeme s vyššími koncentracemi. Zadruhé je do výpočtu celkové koncentrace látek ve vodě zahrnut čas, po který byl vzorkovač exponován. Pro dosažení relevantních dat pro určené období pomocí metody bodových odběrů se musí odebírat více jednotlivých vzorků. Celkově se tedy metoda pasivního vzorkování ukazuje jako méně náročná a přesností a správností srovnatelná s metodou bodových odběrů. To jí dělá efektivní pro monitoring toxických látek ve vodním prostředí.

3.9.4 Normy environmentální kvality a výsledky měření

Normy environmentální kvality (NEK) pro PFOS jsou dány směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2013/39/EU (European Commission, 2013). Tato směrnice udává, že roční průměrná koncentrace PFOS by neměla překročit v útvarech povrchové vody hodnotu 6,5 x10^{-4} µg/l. I přes nedostatek měření k získání ročního průměru, jsou data indikativní zvýšené koncentrace PFOS na všech měřených lokalitách. Tato látka se může vyskytovat ve zvýšené koncentraci z důvodu přítomnosti znečišťujícího zdroje, nebo kvůli přírodním pochodům, například uvolnění ze zvířeného sedimentu.

Data získaná pro PFHxS nemůžeme v současné době posuzovat, jelikož neexistují směrnice udávající NEK v prostředí.

Předpoklady pro koncentrace v lokalitách se potvrdili pouze z části. U pasivního vzorkovaní se potvrdil předpoklad, že v lokalitě Most E50 je vyšší koncentrace než v lokalitě Nad ČOV pro obě sledované látky. Nejvyšší koncentrace se však objevila v lokalitě Jarošov. Je tedy možné, že se v této lokalitě nachází zdroj znečištění. Koncentrace pro bodové odběry vody odpovídají předpokladu téměř perfektně. Jediná odchylka je srovnání koncentrací PFOS pro Nad ČOV a Most E50. Zde bychom předpokládaly větší koncentrace v lokalitě Most E50. Koncentrace v jednotlivých lokalitách je možné srovnávat, jelikož jsou jejich rozdíly statisticky nevýznamné. To vyplývá z překryvu chybových úseček v Obr. 12.



Obr. 12: Grafické znázornění průměrných koncentrací PFAS ve vodě

3.10 Realizace stanovení PFAS v biotě

Kvůli probíhajícím opatřením kolem epidemie COVID-19 nebylo vzhledem k časové náročnosti laboratorní práce možné určit vhodnost metody pasivního vzorkování pro stanovení koncentrací PFAS v rybí tkáni. Chtěl bych tedy alespoň teoreticky nastínit další průběh.

Pro stanovení PFAS v rybí tkáni by se opět využil sorpční agarózový gel, použitý při stanovení PFAS ve vodě. Metoda opět závisí na utvoření gradientu mezi tkání a gelem, ve kterém se látky pohybují pomocí difuze. Tento proces trvá do ustálení koncentrací v rovnovážném stavu. Úprava rybí tkáně by musela být optimalizovaná tak, aby došlo k vytvoření gradientu. V úvahu přichází homogenizace či úprava do formy filetů. Taktéž by musela být optimalizována kapacita sorpčního gelu. V rybí tkáni totiž předpokládáme vyšší koncentraci PFAS než ve vodě. Po expozici v tkáni by tak mohlo dojít k naplnění kapacity vzorkovače a přerušení difuzního toku před dosažením rovnovážného stavu. Doba a podmínky expozice jsou další parametry experimentu, které by bylo nutné určit, aby byl zaručen optimální průběh. Proces, který by následoval po expozici vzorkovačů je identický s procesem popsaným v kapitolách o stanovení koncentrací ve vodě. Pasivní vzorkovaní by se srovnávalo s výsledky získanými pomocí vymývání PFAS methanolem z homogenizované tkáně stanovené hmotnosti. Předpokládáme, že optimalizovaný proces využití metody pasivního vzorkování by mohl dávat nevýznamně odlišné výsledky od standardně používané metody. Pokud by tomu opravdu tak bylo, metoda pasivního vzorkování by se mohla stát vhodnou metodou pro sledování bioakumulačních a biokoncentračních faktorů ve vodních organismech.

4 Závěr

Perfluorované sloučeniny jsou uměle vytvořené organické polutanty. Jsou hydrofobní, oleofobní a odolné vůči rozkladu biotickými i abiotickými cestami. Proto nalézají značné uplatnění v průmyslu. Kvůli těmto vlastnostem je však možné je hojně najít i v životním prostředí. Nejenže PFAS nepodléhají rozkladu, ale existuje i skupina látek, takzvaných PFAS prekurzorů, jichž metabolické dráhy končí nerozkladnými PFAS. Z těchto důvodů se PFAS hromadí v životním prostředí a jejich koncentrace byly naměřeny v mnoha organismech, včetně lidského (Giesy & Kannan, 2001). Oproti jiným standardně sledovaným POP se PFAS váží na proteiny, ne na lipidy. Tento fakt ztěžuje popis chování perfluorovaných sloučenin, jelikož poznatky o jiných POP, rozpustných v lipidech, nejsou pro PFAS vždy aplikovatelné.

V teoretické části jsem zpracoval známé informace o PFAS a jejich chování ve vodním prostředí a v rybách. Mým úkolem bylo zjistit dostupné informace o bioakumulaci PFAS a faktorech, které ji ovlivňují. Tyto informace lze poté použít k interpretaci naměřených bioakumulačních a biokoncentračních faktorů.

Úkolem praktické části této práce bylo otestovat vhodnost metody pasivního vzorkování pro stanovení koncentrací PFAS v rybí tkáni a ve vodě. Vhodnost byla určena porovnáním výsledků metody s výsledky získanými standardně používanými postupy, např. metoda bodových odběrů. V případě, že by metoda pasivního vzorkování byla uznána za vhodnou v obou případech, by bylo možné lépe stanovit a porovnávat bioakumulační faktory látek. Jednotky koncentrací PFAS získaných metodou pasivního vzorkování jsou totiž shodné pro ryby i vodu.

Porovnáním výsledků metody pasivního vzorkovaní a metody bodových odběrů pro stanovení koncentrace PFAS ve vodě bylo zjištěno, že metody se od sebe významně neliší. Tudíž pro stanovení koncentrací ve vodě byla metoda pasivního vzorkování uznána za vhodnou. Testovaní vhodnosti metody pro stanovení koncentrací v rybích tkáních nemohlo kvůli probíhajícím opatřením v souvislosti s COVID-19 proběhnout.

Použité zdroje

Ahrens, L., Siebert, U., & Ebinghaus, R. (2009). Temporal trends of polyfluoroalkyl compounds in harbor seals (Phoca vitulina) from the German Bight, 1999-2008. *Chemosphere*, *76*(2), 151–158. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.053

Babut, M., Labadie, P., Simonnet-Laprade, C., Munoz, G., Roger, M. C., Ferrari, B. J. D., … Sivade, E. (2017). Per- and poly-fluoroalkyl compounds in freshwater fish from the Rhône River: Influence of fish size, diet, prey contamination and biotransformation. *Science of the Total Environment*, *605–606*, 38–47. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.111

Barber, J. L., Berger, U., Chaemfa, C., Huber, S., Jahnke, A., Temme, C., & Jones, K. C. (2007). Analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in air samples from Northwest Europe. *Journal of Environmental Monitoring*, *9*(6), 530–541. https://doi.org/10.1039/b701417a

Barzen-Hanson, K. A., Roberts, S. C., Choyke, S., Oetjen, K., McAlees, A., Riddell, N., … Field, J. A. (2017). Discovery of 40 Classes of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Historical Aqueous Film-Forming Foams (AFFFs) and AFFF-Impacted Groundwater. *Environmental Science and Technology*, *51*(4), 2047–2057. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05843

Bečanová, J., Komprdová, K., Vrana, B., & Klánová, J. (2016). Annual dynamics of perfluorinated compounds in sediment: A case study in the Morava River in Zlín district, Czech Republic. *Chemosphere*, *151*, 225–233. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.081

Biege, L. B., Hurtt, M. E., Frame, S. R., O'Connor, J. C., & Cook, J. C. (2001). Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicological Sciences*. https://doi.org/10.1093/toxsci/60.1.44

Brandsma, S. H., Smithwick, M., Solomon, K., Small, J., de Boer, J., & Muir, D. C. G. (2011). Dietary exposure of rainbow trout to 8:2 and 10:2 fluorotelomer alcohols and perfluorooctanesulfonamide: Uptake, transformation and elimination. *Chemosphere*, *82*(2), 253–258.

https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.050

Busch, J., Ahrens, L., Sturm, R., & Ebinghaus, R. (2010). Polyfluoroalkyl compounds in landfill leachates. *Environmental Pollution*, *158*(5), 1467–1471. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.12.031

Butt, C. M., Muir, D. C. G., & Mabury, S. A. (2010a). Biotransformation of the 8:2 fluorotelomer acrylate in rainbow trout. 1. In vivo dietary exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *29*(12), 2726–2735. https://doi.org/10.1002/etc.349

Butt, C. M., Muir, D. C. G., & Mabury, S. A. (2010b). Biotransformation of the 8:2 fluorotelomer acrylate in rainbow trout. 2. In vitro incubations with liver and stomach S9 fractions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *29*(12), 2736–2741. https://doi.org/10.1002/etc.348

Conder, J. M., Hoke, R. A., De Wolf, W., Russell, M. H., & Buck, R. C. (2008). Are PFCAs bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds. *Environmental Science and Technology*. https://doi.org/10.1021/es070895g

Davis, K. L., Aucoin, M. D., Larsen, B. S., Kaiser, M. A., & Hartten, A. S. (2007). Transport of ammonium perfluorooctanoate in environmental media near a fluoropolymer manufacturing facility. *Chemosphere*, *67*(10), 2011–2019. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.049

Ellis, D. A., Martin, J. W., De Silva, A. O., Mabury, S. A., Hurley, M. D., Sulbaek Andersen, M. P., & Wallington, T. J. (2004). Degradation of fluorotelomer alcohols: A likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environmental Science and Technology*, *38*(12), 3316–3321. https://doi.org/10.1021/es049860w

European Commission. Směrnice Evropského Parlamentu a Rady 2013/39/Eu. , 2013 Úřední věstník Evropské unie § (2013).

Filipská, P. (2009). Geochemie sedimentů mrtvého ramene Čerťák ve Starém Městě na Moravě (Masarykova Univerzita). Retrieved from https://is.muni.cz/th/162595/prif_m/

Garber, K., & Sappington, K. (2009). *User's Guide and Technical Documentation (KOW (based) Aquatic BioAccumulation Model)*. *0*, 1–123.

Giesy, J. P., & Kannan, K. (2001). Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environmental Science and Technology*. https://doi.org/10.1021/es001834k

Haukås, M., Berger, U., Hop, H., Gulliksen, B., & Gabrielsen, G. W. (2007). Bioaccumulation of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in selected species from the Barents Sea food web. *Environmental Pollution*, *148*(1), 360–371. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.09.021

Hekster, F. M., & De Voogt, P. (2002). Perfluoroalkylated substances-Aquatic environmental assessment. *University of Amsterdam*, *Report RIK*(July).

Higgins, C. P., & Luthy, R. G. (2007). Modeling sorption of anionic surfactants onto sediment materials: An a priori approach for perfluoroalkyl surfactants and linear alkylbenzene sulfonates. *Environmental Science and Technology*, *41*(9), 3254–3261. https://doi.org/10.1021/es062449j

Houtz, E. F., Higgins, C. P., Field, J. A., & Sedlak, D. L. (2013). Persistence of perfluoroalkyl acid precursors in AFFF-impacted groundwater and soil. *Environmental Science and Technology*, *47*(15), 8187–8195. https://doi.org/10.1021/es4018877

ITRC. (2018). Environmental Fate and Transport for Per-and Polyfluoroalkyl Substances. *Interstate Technology Regulatory Council Sheets*, 18. Retrieved from https://pfas-1.itrcweb.org/wp-content/uploads/2018/03/pfas_fact_sheet_fate_and_transport__3_16_18.pdf

John P. Giesy, K. K. (2002). Perfluorochemical surfactants in the environment These bioaccumulative compounds occur globally, warranting further study. *Environ Sci Technol*, *36*(7), 146A–152A. https://doi.org/10.1021/es022253t

Jones, P. D., Hu, W., De Coen, W., Newsted, J. L., & Giesy, J. P. (2003). Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *22*(11), 2639–2649.

https://doi.org/10.1897/02-553

Kannan, K., Tao, L., Sinclair, E., Pastva, S. D., Jude, D. J., & Giesy, J. P. (2005). Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *48*(4), 559–566. https://doi.org/10.1007/s00244-004-0133-x

Karásková, P., Venier, M., Melymuk, L., Bečanová, J., Vojta, Š., Prokeš, R., … Klánová, J. (2016). Perfluorinated alkyl substances (PFASs) in household dust in Central Europe and North America. *Environment International*, *94*, 315–324. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.05.031

Lindstrom, A. B., Strynar, M. J., Delinsky, A. D., Nakayama, S. F., McMillan, L., Libelo, E. L., … Thomas, L. (2011). Application of WWTP biosolids and resulting perfluorinated compound contamination of surface and well water in Decatur, Alabama, USA. *Environmental Science and Technology*, *45*(19), 8015–8021. https://doi.org/10.1021/es1039425

Liu, X., Fang, M., Xu, F., & Chen, D. (2019, July 1). Characterization of the binding of per- and poly-fluorinated substances to proteins: A methodological review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 116, pp. 177–185. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.017

Martin, J. W., Mabury, S. A., Solomon, K. R., & Muir, D. C. G. (2003). Bioconcentration and Tissue Distribution of Perfluorinated Acids in Rainbow Trout (Oncorhynchus Mykiss). *Environmental Toxicology and Chemistry*, *22*(1), 196. https://doi.org/10.1897/1551-5028(2003)022<0196:batdop>2.0.co;2

Mittal, V. K., & Ng, C. A. (2018). Formation of PFAAs in fish through biotransformation: A PBPK approach. *Chemosphere*, *202*, 218–227. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.064

MŽP. (2005). *Vyhláška č. 294/2005 Sb. o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady*. *4*(83 8005). Retrieved from https://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/96F060C6A3D87823C125708F00317B16/%24file/V 294_2005.pdf

Pan, C. G., Zhao, J. L., Liu, Y. S., Zhang, Q. Q., Chen, Z. F., Lai, H. J., … Ying, G. G. (2014). Bioaccumulation and risk assessment of per- and polyfluoroalkyl substances in wild freshwater fish from rivers in the Pearl River Delta region, South China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *107*, 192–199. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.031

Plumlee, M. H., Mcneill, K., & Reinhard, M. (2009). Indirect photolysis of perfluorochemicals: Hydroxyl radical-initiated oxidation of N-ethyl perfluorooctane sulfonamido acetate (N-EtFOSAA) and other perfluoroalkanesulfonamides. *Environmental Science and Technology*, *43*(10), 3662–3668. https://doi.org/10.1021/es803411w

Poothong, S., Papadopoulou, E., Padilla-Sánchez, J. A., Thomsen, C., & Haug, L. S. (2020). Multiple pathways of human exposure to poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs): From external exposure to human blood. *Environment International*, *134*(June 2019), 105244. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105244

Riess, J. G. (2005). Understanding the fundamentals of perfluorocarbons and perfluorocarbon emulsions relevant to in vivo oxygen delivery. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobilization Biotechnology*, *33*(1), 47–63. https://doi.org/10.1081/BIO-200046659

Smith, J. W. N., Beuthe, B., Dunk, M., Demeure, S., Carmona, J. M. M., Medve, A., … Slenders, H. (2016). Environmental fate and effects of polyand perfluoroalkyl substances (PFAS). *CONCAWE Reports*, (8), 1–107.

Stahl, T., Mattern, D., & Brunn, H. (2011). Toxicology of perfluorinated compounds. *Environmental Sciences Europe*. https://doi.org/10.1186/2190-4715-23-38

Stockholm Convention, & UNEP. (2017). *The 16 New POPs. 25 p*. (June), 25.

Šverclová, K. (2019). *Kalibrace a terénní testování pasivních vzorkovačů na monitorování produktů osobní péče ve vodním prostředí* (Masarykova Univerzita). Retrieved from https://is.muni.cz/auth/th/d3yyf/

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

VARIAN INC. (n.d.). *Handbook of Sorbent Extraction Technology*. 140.

Vrana, B., Klánová, J., Čupr, P., Prokeš, R., Borůvková, J., Bečanová, J., … Feixová, B. (2016). Metodika pasivního vzorkování perfluoroktansulfonátu PFOS, PFOA a vybraných farmak ve vodním prostředí - certifikovaná metodika (Nmet). *Recetox Report*, *598*, 70. Retrieved from https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/vestnik_2017/$FILE/SOTPR_priloha16_170607.pdf

Washington, J. W., & Jenkins, T. M. (2015). Abiotic Hydrolysis of Fluorotelomer-Based Polymers as a Source of Perfluorocarboxylates at the Global Scale. *Environmental Science and Technology*, *49*(24), 14129–14135. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03686

Xia, D., Gao, L., Zheng, M., Sun, Y., Qiao, L., Huang, H., … Zhang, L. (2019). Identification and evaluation of chlorinated nonane paraffins in the environment: A persistent organic pollutant candidate for the Stockholm Convention? *Journal of Hazardous Materials*, *371*(January), 449–455. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.089