



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ**

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

**ANALÝZA PERFLUOROVANÝCH ALKYLOVÝCH
SLOUČENIN V ENVIRONMENTÁLNÍCH MATRICÍCH**

ANALYSIS OF PERFLUORINATED ALKYL COMPOUNDS IN ENVIRONMENTAL MATRICES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Anna Marie Šimáková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1986/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Studentka: **Anna Marie Šimáková**
Studijní program: Aplikovaná analytická,
environmentální a forenzní chemie
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Analýza perfluorovaných alkylových sloučenin v environmentálních matricích

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat literární rešerši na téma problematiky výskytu a analýzy per- a polyfluorovaných alkylových sloučenin.
2. Optimalizovat metodu stanovení PFAS pomocí LC/MS/MS v environmentálních matricích.
3. Ověření metody na vybraných reálných vzorcích.
4. Statistické zpracování získaných dat.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu.
Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Anna Marie Šimáková
studentka

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

Abstrakt

Bakalářská práce pojednává o stále aktuální problematice perfluorovaných a polyfluorovaných látek ve vodním prostředí. V teoretické části je nejprve řešena výroba a využití PFAS, jenž vedlo k rozšíření těchto polutantů do životního prostředí. Dále je zde uvedeno jejich chování v životním prostředí, které kvůli jejich vlastnostem má za následek perzistenci v životním prostředí, schopnost se akumulovat v živých organismech a v případě rozkladu, mít možnost ještě horších dopadů. Následkem expozice může u živých organismů dojít k vzniku karcinogenů, změnám v hormonálním systému a různým druhům toxicity. Závěr teoretické části se zabývá metodami možné extrakce z různých matric a detekcí pomocí vhodné analytické metody.

Experimentální část se zabývá optimalizací parametrů pro metodu stanovení a extrakci perfluorovaných a polyfluorovaných látek z vody. Všechny parametry byly optimalizovány za účelem dosažení, co nejvyšších výtěžností s přijatelnou opakovatelností a pro dosažení, co nejnižších limitů detekce a kvantifikace.

Abstract

The bachelor thesis deals with the still topical issue of perfluorinated and polyfluorinated substances in the aquatic environment. In the theoretical part, the production and use of PFASs, which has led to the spread of these pollutants into the environment, is first addressed. Then, their behaviour in the environment is presented, which, due to their properties, results in their persistence in the environment, their ability to accumulate in living organisms and, in the case of decomposition, the possibility of even worse impacts. Exposure can result in carcinogens, hormonal changes and various types of toxicity in living organisms. The theoretical part concludes with methods for possible extraction from different matrices and detection by a suitable analytical method.

The experimental part deals with the optimization of parameters for the method of determination and extraction of perfluorinated and polyfluorinated substances from water. All parameters were optimized to achieve the highest possible recoveries with acceptable repeatability and to achieve the lowest possible limits of detection and quantification.

Klíčový slova

PFAS, voda, SPE, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

Keywords

PFAS, water, SPE, liquid chromatography, mass spectrometry

ŠIMÁKOVÁ, Anna Marie. *Analýza perfluorovaných alkylových sloučenin v environmentálních matricích*. Brno, 2024. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156670>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Ludmila Mravcová.

Prohlášení

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

.....

Anna Marie Šimáková

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své vedoucí bakalářské práce Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za její odborné rady, čas, vstřícný přístup. Velké poděkování patří mému konzultantovi Ing. Janu Fučíkovi za cenné rady a připomínky při zpracování teoretické a praktické části bakalářské práce. Poděkování patří i Fakultě chemické za poskytnutí laboratoří a přístrojového vybavení pro realizaci experimentální části. V neposlední řadě chci vyjádřit své díky své rodině a přátelům za podporu při studiu.

Obsah

1	ÚVOD.....	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	PFAS.....	9
2.1.1	Vlastnosti.....	9
2.1.2	Vzorce stanovovaných PFAS	10
2.2	Výroba.....	12
2.2.1	Elektrochemická fluorace.....	12
2.2.2	Telomerace	13
2.3	Aplikace	13
2.4	Zdroje PFAS	15
2.5	Možné způsoby odstranění PFAS z vody.....	16
2.5.1	Sorpce.....	16
2.5.2	Biouhel	17
2.5.3	Pokročilé oxidační procesy	17
2.6	PFAS v enviromentálním prostředí	18
2.6.1	Atmosféra	18
2.6.2	Hydrosféra	19
2.6.3	Pedosféra	20
2.7	Toxické účinky u lidí.....	21
2.8	Legislativa	22
2.8.1	Česká republika a Evropská unie	22
2.8.2	Spojené státy americké.....	22
2.9	Metody stanovení PFAS.....	23
2.10	Problémy s analyzováním PFAS	25
2.11	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	25
2.12	Hmotnostní spektrometrie	26
2.12.1	Vakuový systém.....	27
2.12.2	Iontový zdroj	27
2.12.3	Analyzátory	28
2.12.4	Jednoduchý kvadrupól.....	29
2.12.5	Trojité kvadrupól.....	30

2.12.6	Detektor	31
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	32
3.1	Používané přístroje a zařízení	32
3.2	Použitý software	32
3.3	Chemikálie, spotřební materiál a standardy	32
3.3.1	Rozpouštědla	32
3.3.2	Kyseliny a Zásady	32
3.3.3	Standard.....	32
3.3.4	Technické plyny	32
3.3.5	SPE extrakční kolony:	33
3.4	Studovaná matrice	33
3.5	Příprava roztoků	33
3.5.1	Příprava pracovního roztoku	33
3.5.2	Příprava kalibrační řady	33
3.5.3	Příprava zásobních roztoků	33
3.6	LC-MS/MS metoda	34
3.7	Optimalizace LC-MS/MS	36
3.7.1	Optimalizovaná metoda LC-MS/MS	36
3.8	Výsledná metoda pro extrakci PFAS z vody	38
3.8.1	Výsledný optimalizovaný postup extrakce na pevnou fázi (SPE)	38
3.8.2	Optimalizační kroky při extrakci na pevnou fázi (SPE)	38
3.8.3	Validace optimalizované metody	39
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	41
4.1	Optimalizace LC-MS/MS	41
4.1.1	Optimalizační krok mobilní fáze	41
4.1.2	Optimalizační krok mobilní fáze 2	45
4.1.3	Optimalizační krok ESI	45
4.2	Optimalizace extrakce na pevnou fázi (SPE)	49
4.2.1	Optimalizační krok výběru SPE kolonky	49
4.2.2	Optimalizační krok nanášeného objemu vzorku	51
4.2.3	Optimalizační krok rekonstitučního objemu	53
4.2.4	Optimalizační krok elučního objemu	55

4.2.5	Výsledky validace	57
4.2.6	Analýza reálných vzorků.....	59
5	ZÁVĚR.....	60
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	61
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	65
8	SEZNAM PŘÍLOH.....	76

1 ÚVOD

Perfluorované a polyfluorované látky (PFAS) je skupina tisíce chemických látek, která byla objevena koncem 30. let 20. století. Od té doby našly využití, díky jejich různorodým fyzikálně-chemickým vlastnostem, v mnoha odvětvích průmyslu jako jsou letecký, polovodičový, zdravotnický, automobilový, stavební, elektronický a spotřebitelský [1].

Větší povědomí o přítomnosti PFAS bylo zjištěno v 70. a 90. letech, kdy proběhly studie, které detekovaly PFAS v krvi exponovaných pracovníků a následně i v běžné populaci. A přesto, že jsou vyráběny už po dobu několika dekad, tak až do počátku roku 2000 nebyly v životním prostředí široce zdokumentovány. Od roku 2000, kdy se začaly vyvíjet metody s nižšími detekčními limity, se výskyt PFAS stal velmi aktivní oblastí výzkumu a jejich výskyt je od té doby hlášen v nejrůznějších maticích [1].

Později laboratorní studie na zvířatech a epidemiologické studie lidské populace odhalily, že vliv PFAS má vážně riziko na lidské zdraví z důvodu vyvolání řady nežádoucích účinků. Mezi změny, které mohou vyvolat patří změny ve vývoji, metabolismu lipidů a endokrinním systému, kancerogenitu, imunotoxicitu, hepatotoxicitu a reprotoxicitu [2].

Globálně se začaly PFAS regulovat až v roce 2009, z důvodu jejich zařazení mezi perzistentní organické polutanty (POPs), kdy byla nejprve přidána do Stockholmské úmluvy kyselina perfluoroktansulfonová a její deriváty (PFOS), v roce 2020 i kyselina perfluoroktanová (PFOA), její soli a sloučeniny příbuzné PFOA a následně v 2022 kyselina perfluorohexansulfonová (PFHxS), její soli a příbuzné sloučeniny [3].

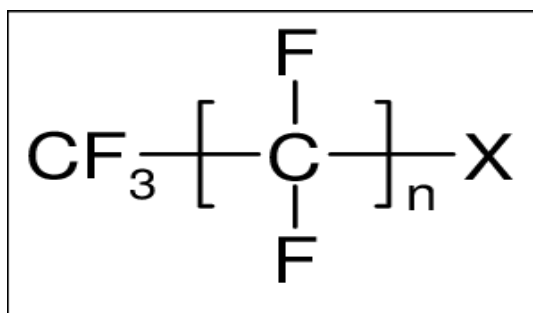
I přes tuto regulaci, která je stále minimální, bude trvat 1000 let, aby u některých z nich došlo k degradaci. Problém je i jejich mobilita, která jim umožňuje se pohybovat do míst, kde se nikdy nevyráběly nebo jim umožňuje pohyb mezi ekosystémy, kvůli tomu jejich odstranění bude ještě těžší. I přes tyto problémy se už objevují možnosti, jak je z matic extrahovat jako například různé druhy sorpce a pokročilé oxidační procesy, které ale bohužel se ještě nedají použít ve větším měřítku [4-6].

Cílem této bakalářské práce je optimalizace metody pro stanovení směsi PFAS pomocí LC-MS/MS v environmentálních maticích, a to konkrétně ve vodní matici. Jelikož přístup k nezávadné pitné vodě je jedno ze základních lidských práv, z toho důvodu je potřeba minimalizovat znečištění a uvolňování PFAS do vody, kvůli jejich vlivu na lidské zdraví. Kvůli širokému používání, výrobě a jejich vlastnostem, jako jsou perzistence, mobilita a bioakumulace, je obava, že PFAS překročily hranici únosnosti, jak pro člověka, tak i pro životní prostředí [7].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 PFAS

Perfluorované a polyfluorované látky (PFAS) jsou syntetickou perzistentní organickou skupinou více než 4 700 látek nebo jejichmi prekurzory, které byly vytvořené člověkem a používány od 40. let 20. století. Tyto látky mají širokou škálu fyzikálně-chemických vlastností, přičemž mohou tvořit plyny, kapaliny nebo pevné vysokomolekulární polymery. Některé PFAS mohou být tvořeny krátkými nebo dlouhými řetězci, ale toto je jenom část z nich, jelikož jejich strukturní forma může být různorodá. Sloučeniny s kratším řetězcem jsou perzistentnější, avšak ty s delším řetězcem jsou stále velmi stabilní, přičemž při jejich rozkladu primárně vznikají PFAS s kratšími řetězci. Jejich společným znakem je vazba několika atomů fluoru na různě dlouhý alkylový řetězec. Díky jejich různorodým vlastnostem mají širokou škálu využití v průmyslu nebo i v běžném životě, což ale vede i k jejich širokému rozšíření v přírodě, kdy jsou detekovány jak v půdě, sedimentech, povrchové, podzemní, tak i odpadní vodě [3, 8, 9].



Obrázek 1: Strukturní vzorec PFAS [10]

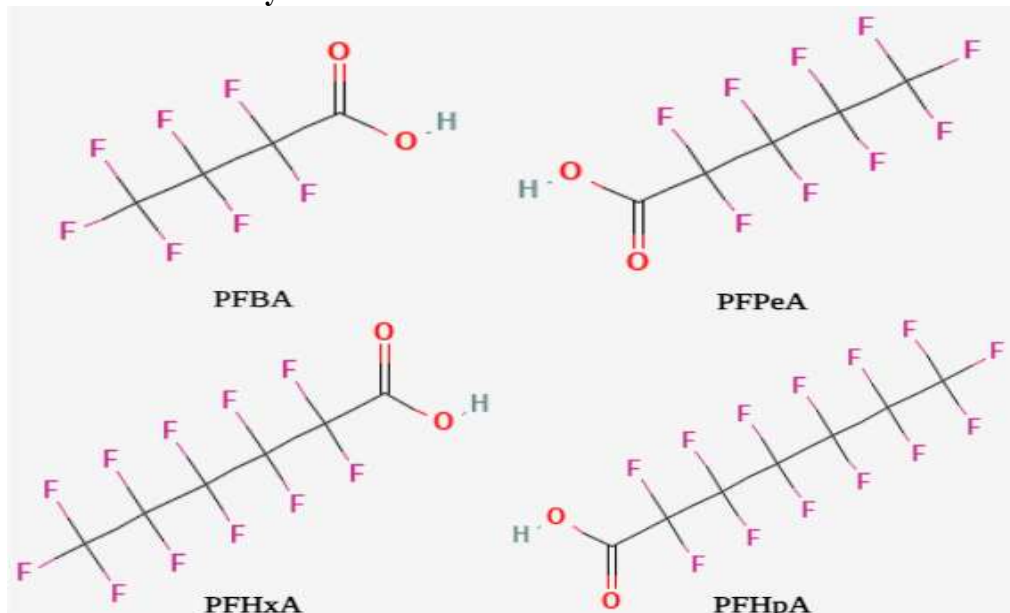
Dříve byly PFAS považovány za inertní a netoxické látky, což vedlo k tomu, že se jejich vlivu na životní prostředí a dopadu na lidské zdraví nevěnovalo tolik pozornosti. Kvůli jejich rozšířenému výskytu, vysoké stabilitě, bioakumulaci a zprávám o jejich toxicitě, se začaly zavádět přísnější regulace po celém světě. Vysokou obavu způsobují tyto látky z důvodu jejich vysoké perzistence a jejich poločasu rozpadu odhadovaný na více než 92 let ve vodním prostředí. Toto je způsobeno jejich vazbou mezi uhlíkem a fluorem. Kvůli těmto důvodům jsou označovány jako "věčné chemikálie". PFAS mají vysokou mobilitu a pohybují se v prostředí prostřednictvím podzemních vod, potoků, oceánů, prachových částic nebo i výluh ze skládek [9]. Přehled analyzovaných PFAS v rámci práce včetně fyzikálně chemických vlastností je možné nalézt v *tabulce 1*.

2.1.1 Vlastnosti

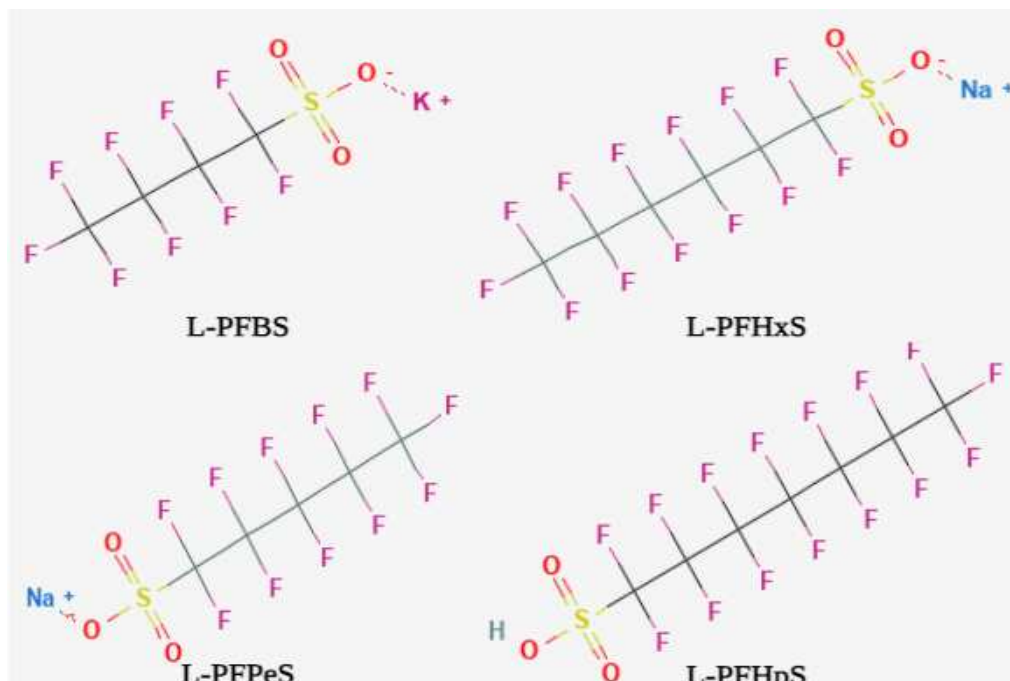
PFAS patří mezi fluorované povrchové aktivní látky a mají částečný nebo úplný hydrofobní charakter. Jejich struktura může být buď lineární nebo rozvětvená, přičemž díky jejich C-F vazbám jsou vysoce stabilní. Vazba je silnější s každým na uhlíku substituovaným vodíkem za fluor, což vede k tomu, že čím více jsou substituované tím jsou méně reaktivní. PFAS jsou obecně odolné vůči teplu, kyselinám, zásadám, redukčním činidlům, oxidantům a také fotolytickým, mikrobiálním a metabolickým rozkladným procesům. Z dostupných údajů o fyzikálně-chemických vlastnostech těchto látek je naznačováno, že PFAS jsou silné kyseliny, které se v životním prostředí vyskytují v záporně nabitě disociované formě. Prekurzory těchto

látek jsou z větší části neutrální a nedisociují. PFAS mají nízký tlak par, který se s rostoucí délkou uhlíkového řetězce snižuje, což naznačuje, že se nebudou moc odpařovat, a tím pádem se budou hůře odstraňovat z matric. Rozpustnost těchto látek ve vodě se zvyšuje se snižující délkou uhlíkového řetězce. PFAS, které nesou nabitou funkční skupinu, mají vysokou rozpustnost oproti jejich neutrálním prekurzorům [11, 12].

2.1.2 Vzorce stanovovaných PFAS



Obrázek 2: Vybrané strukturní vzorce stanovovaných PFAS – upraveno v biorender [13]



Obrázek 3: Vybrané strukturní vzorce stanovovaných PFAS – upraveno v biorender [13]

Tabulka 1: Vyjmenované měřené PFAS a jejich vlastnosti [13, 14, 15]

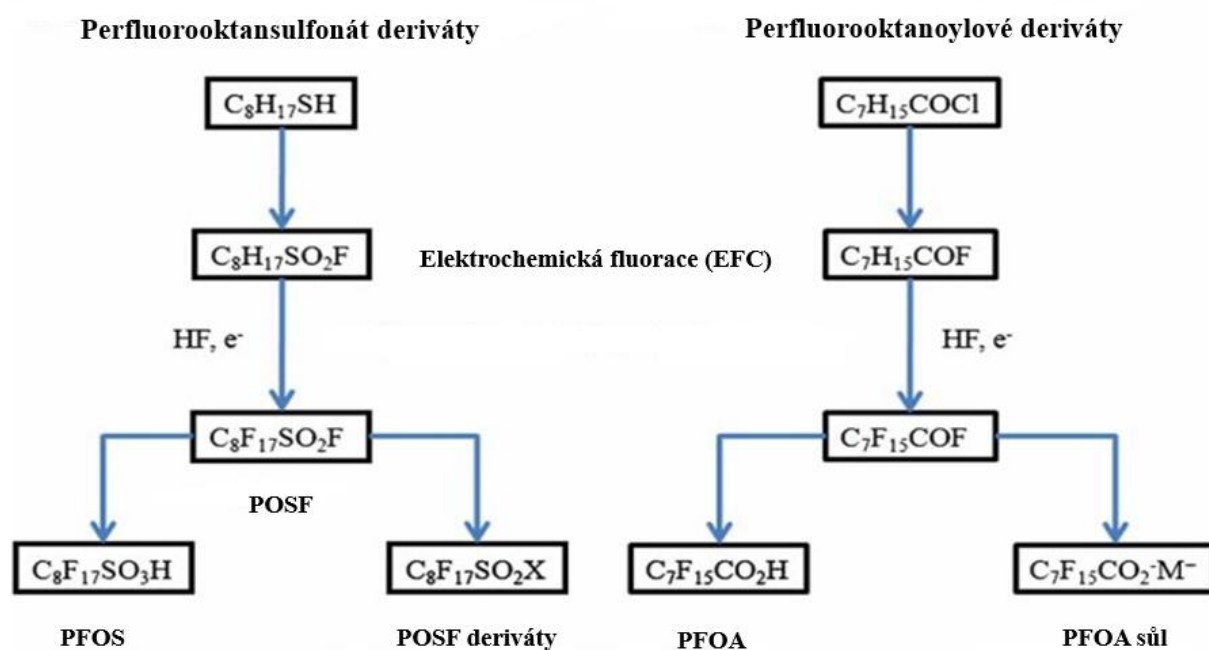
PFAS	Zkratka	Sumární vzorec	Mr [g/mol]	pKa	LogP
Perfluorobutanová kyselina	PFBA	C ₄ HF ₇ O ₂	214.04	0.17	1.90
Perfluoropentanová kyselina	PFPeA (PFPA)	C ₅ HF ₉ O ₂	264.05	0.40 ± 0.10*	2.54
Perfluorohexanová kyselina	PFHxA	C ₆ HF ₁₁ O ₂	314.05	0.42 ± 0.10*	3.17
Perfluoroheptanová kyselina	PFHpA	C ₇ HF ₁₃ O ₂	364.06	0.47 ± 0.10*	3.81
Perfluorooktanová kyselina	PFOA	C ₈ HF ₁₅ O ₂	414.07	0.50 ± 0.10*	4.45
Perfluorononanová kyselina	PFNA	C ₉ HF ₁₇ O ₂	464.08	0.52 ± 0.10*	5.08
Perfluorodekanová kyselina	PFDA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	514.08	0.52 ± 0.10*	5.72
Perfluoroundekanová kyselina	PFUdA (PFUnDA)	C ₁₁ HF ₂₁ O ₂	564.09	0.52 ± 0.10*	6.35
Perfluorododekanová kyselina	PFDoA (PFDoDA)	C ₁₂ HF ₂₃ O ₂	614.10	0.52 ± 0.10*	6.99
Perfluorotridekanová kyselina	PFTTrDA	C ₁₃ HF ₂₅ O ₂	664.10	0.52 ± 0.10*	7.62
Perfluoro-1-butansulfonát draselný	L-PFBS	C ₄ F ₉ KO ₃ S	338.19	-	3.04
Perfluoro-1-pentansulfonát sodný	L-PFPeS	C ₅ F ₁₁ NaO ₃ S	372.09	-	3.67
Perfluoro-1-hexansulfonát sodný	L-PFHxS	C ₆ F ₁₃ NaO ₃ S	422.10	-	4.30
Perfluoro-1-heptansulfonát sodný	L-PFHpS	C ₇ F ₁₅ NaO ₃ S	450.12	-3.29 ± 0.50*	5.29
Perfluoro-1-oktansulfonát sodný	L-PFOS	C ₈ F ₁₇ NaO ₃ S	522.11	-	5.58
Perfluoro-1-nonansulfonát sodný	L-PFNS	C ₉ F ₁₉ NaO ₃ S	572.12	-	-
Perfluoro-1-dekansulfonát sodný	L-PFDS	C ₁₀ F ₂₁ NaO ₃ S	622.13	-	6.85
Perfluoro-1-undekansulfonát sodný	L-PFUdS	C ₁₁ F ₂₃ NaO ₃ S	672.14	-	-
Perfluoro-1-dodekansulfonát sodný	L-PFDoS	C ₁₂ F ₂₅ NaO ₃ S	722.14	-	-
Perfluoro-1-tridekansulfonát sodný	L-PFTTrDS	C ₁₃ F ₂₇ NaO ₃ S	772.15	-	-

* Předpovídané hodnoty (z webu <https://www.guidechem.com/>)

2.2 Výroba

2.2.1 Elektrochemická fluorace

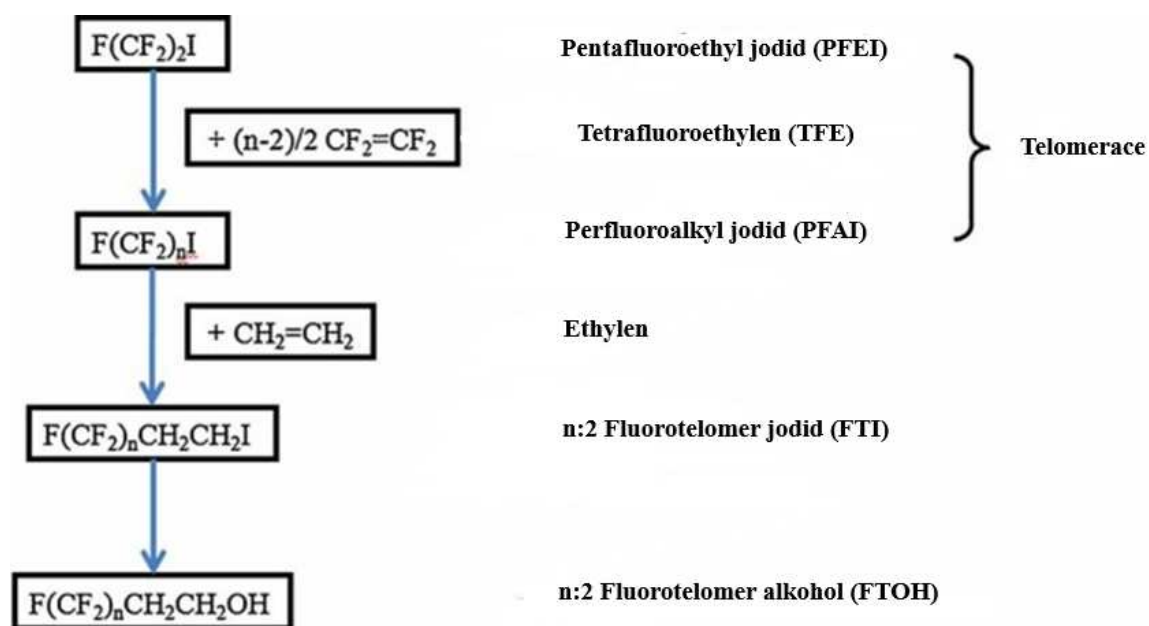
Elektrochemická fluorace (ECF) je technologie, při které organická surovina podléhá elektrolýze v bezvodém HF, přičemž dochází k substituci všech atomů H atomy F. Povaha tohoto procesu vede k přeskupování a rozpadu řetězců, což vede k tvoření směsi lineárních a rozvětvených perfluorovaných izomerů, homologů surovin, jiných perfluorovaných uhlovodíků (PFC) a dalších látek. Podíl vznikajících rozvětvených a lineárních řetězců se liší v závislosti na řízení procesu, v případě perfluorooktansulfonátů (PFOS) a perfluorooktanových kyselin (PFOA) je přibližně 70 až 80 % lineárních a 20 až 30 % rozvětvených [16].



Obrázek 4: Výroba PFAS elektrochemickou fluorací – přeloženo z [16]

2.2.2 Telomerace

Telomerace, je druhým důležitým procesem výroby perfluoroalkylových látek. Při této technologii reaguje perfluoroalkyljodid, nejčastěji pentafluorethyl (nebo perfluorethyl) jodid, s tetrafluorethylenem (TFE), přičemž vzniká směs perfluoroalkyljodidů s delšími perfluorovanými řetězci. Směs produktů perfluoroalkyljodidů následně reaguje ve druhém kroku s ethylenem. Produkty vzniklé v první a druhém kroku jsou surovinové meziprodukty využívané k výrobě dalších produktů, které dále reagují za vzniku povrchově aktivních látek a polymerů na bázi fluorotelomerů [16].



Obrázek 5: Výroba PFAS telomerací – přeloženo z [16]

2.3 Aplikace

Díky jejich široké škále chemických a fyzických vlastností a různým strukturním formám mají rozsáhlou možnost uplatnění. PFAS se používají například v hasicích pěnách, nepřilnavých povlácích na pánve, papírových obalech na potraviny, textilu, kosmetice, krytí solárních článků, barvách a fotografiích, chromování, pesticidech a léčivých přípravcích. PFAS mají v těchto produktech různé funkce jako třeba ochrana proti povětrnostním vlivům, ochrana proti korozi a odolnost proti skvrnám a způsobují v produktech, odpudivost vůči olejům, vodě, skvrnám a půdě, chemickou a teplotní odolnost, snižují tření a mají povrchově aktivní vlastnosti. V tabulce 2 lze vidět přehled aplikací [17, 18].

Tabulka 2: Příklady průmyslů a aplikací PFAS [17]

Odvětví průmyslu/Aplikace	Použití
Automobilový průmysl	Mechanické součástky (vodiče, kabely, palivové hadičky, těsnění, ložiska, ...) Povrchová úprava textilií, čalounění, koberců, kůže, ...
Biocidy (herbicidy a pesticidy)	Látky jako jsou sulfonamidy s krátkými řetězci v regulátorech růstu rostlin a herbicidech V nástrahách proti mravencům a termitům
Chemický průmysl	Potahy v chemických nádržích a potrubí k zvýšení odolnosti proti korozi a vysokým teplotám Stabilizátory a pojiva pro některé chemické reakce, odstranění nedokonalostí, inertní reakční médium
Kosmetika/Produkty osobní péče	Zubní nitě, zubní pasty, žvýkačky, opalovací krémy, kosmetika, mikro prášek v pleťových vodách Šampony, laky na nehty, oční make-up, oční kapky, kontaktní čočky
Elektronika	Izolátory, v telefonech, v počítačích, v reproduktorech Zpomalovače hoření pro polykarbonátovou pryskyřici
Výbušniny, pohonné hmoty, zbraně a střelivo	Na zbraně pro mazání a proti degradaci při skladování, ve světlicích, v bojových hlavicích Infračervené světlice, povlakování reaktivních kovových prášků, modifikace chování při hoření
Požární ochrana/bezpečnost	V protipožárním vybavení a ochranných oděvech Povlaky a materiály používané jako vodoodpudivé látky
Zpracování potravin	Výplň plechů, pecí a roštů Povlaky na obaly potravin
Domácnost a čisticí prostředky	Nepřilnavé povlaky, dodatečná úprava textilií, koberců a kůže, sklo Nátěry a povrchové úpravy podlah, čisticí prostředky, automobilové vosky
Zdravotnické výrobky	Chirurgické náplasti, materiály pro implantáty do lidského těla (jehly, stehy, katetry) součástí přístrojů Rentgenové filmy, ochranné zdravotnické tkaniny, čisticí prostředky na ošetření popálenin
Textil (čalounění, koberce), kůže a oděvy	Venkovní vybavení, oděvy a domácí potřeby, povrchové a ošetrovací nátěry odpuzující vodu a olej Chromové úpravy papíru a kůže

2.4 Zdroje PFAS

Půda: Jedním ze zdrojů PFAS v půdě jsou skládky s výrobky s povlakem z PFAS (například nepřilnavé pánve, krabice na pizzu, sáčky na popcorn do mikrovlnné trouby, kuchyňské náčiní, jako jsou špachtle, viz *Tabulka 2*), kdy může dojít k vyluhování a následnému vsáknutí do půdy. To samé se může stát s dešťovou vodou obsahující PFAS. Dalším zdrojem může být únik chemické látky obsahující PFAS [19, 20].

Vzduch: Zdrojem PFAS ve vzduchu jsou výrobní procesy, anebo i běžně používané produkty jejichž tyto sloučeniny jsou součástí. Mezi tyto produkty patří odolné textilní nátěry, tmely a barvy a pokud dojde k jejich narušení tak se PFAS uvolní do vzduchu [19, 20].

Voda: Hlavním zdrojem PFAS ve vodě jsou odpařování vody z průmyslu, domácností a lidských odpadů. Do vodního prostředí se dostávají i kvůli chemickým únikům látek nebo z pěny tvořící vodní film. Dále mohou procházet do podzemních vod skrz půdu nebo se absorbovat do oceánů ze vzduchu, jako se absorbuje uhlík. Uvolňovat se do vodního systému mohou také z pracích prostředků, vosků na surfování prkna, lodě a vodní skútry [19, 20, 21].

Pokud se tyto látky dostanou do jednoho z ekosystémů, tak začne docházet k hromadění a dojde ke koloběhu mezi systémy, které mohou trvat mnoho let. Odstranění PFAS ze životního prostředí je velmi náročné, jelikož je zapotřebí specifických filtračních systémů, nebo jiných technologií, které většina čistíren nemá, a navíc odstraňování PFAS z půdy a ovzduší může být časově náročné a nákladné [19, 20].

2.5 Možné způsoby odstranění PFAS z vody

PFAS se desítky let používají ve spotřebních výrobcích, kvůli jejich schopnosti je udělat nepřilnavé a odolné vůči vodě, nebo se používají v mnoha průmyslových procesech. Z důvodu jejich vlastností, přetrvávají v životním prostředí a bioakumulují se v tělech nás a dalších živočichů. Kvůli jejich vlastnostem a schopnosti se rozpouštět ve vodě je nemožné je odstranit tradičními technologiemi úpravy pitné vody, z toho důvodu jsou zkoumány a vyvíjeny různé technologie, které by tomuhle mohly napomoci [22].

2.5.1 Sorpce

V jedné studii Herkert a kol. [4] bylo zkoušeno několik typů filtru (1 - filtry s reverzní osmózou, 2 - dvoustupňové filtry, 3 - blokové filtry s aktivním uhlím pod dřezem, 4 - filtry montované na kohoutek, 5 - filtry do filtrační konvice, 6 - filtry do chladniček, 7 - filtry na bázi granulovaného aktivního uhlí (GAC) a 8 - filtry s kombinací GAC a iontové výměny) s tím, že u 79 % jejich použití vykazovalo výrazné odstranění a u 21 % zase žádné výrazné odstranění nevykazovaly. První dva typy filtrů vykazovaly ≥ 90 % u perfluorkarboxylové kyseliny (PFCA) a perfluoroalkylsulfonové kyseliny (PFSA), ≥ 97 % odstranění u per- a polyfluoroalkyletherové kyseliny (PFEA) a u amonné soli kyseliny dimerní hexafluoropropylenoxidu (HFPO-DA neboli GenX) > 74 % a > 75 % účinnost odstranění. Třetí typ odstranil > 84 % PFSA, ≥ 90 % PFEA, ale za to polovinu PFCA oproti PFSA. Čtvrtý a pátý typ odstranil ~ 50 % všech měřených cílových PFCA a PFSA, ale za to měly vyšší odstranění perfluoroalkylových kyselin (PFAA) s dlouhými řetězci oproti těm s kratšími. Navíc pátý typ filtru z dvou různých míst ukazoval rozdílné výkony odstranění (jeden > 92 % a druhý 50 %), což bylo vysvětleno, tím že jsou nabízeny v různých velikostech a s různým množstvím aktivního uhlí. U sedmého a osmého typu byly celkem smíšené výsledky, jelikož polovina vykazovala výrazné odstranění a druhá měla nevýrazné, přičemž u sedmého typu, kde byly použity dva systémy, bylo odstranění u prvního v průměru > 80 % a u druhého v průměru < 30 %. Výsledky osmého typu s iontovou výměnou byly značně nekonzistentní a nepředvídatelné. Z výsledků, které byly v studii získány bylo zjištěno, že filtry s aktivním uhlím lépe odstraňují v průměru účinněji PFAA s delšími řetězci a také i PFSA byly odfiltrovány lépe než jejich PFCA protějšky o stejné délce řetězce, a to z důvodu toho, že PFSA jsou hydrofobnější. Oproti tomu PFAA s kratšími řetězci jsou hůře odstranitelné filtry s aktivním uhlím (kromě dvoustupňového) a to jenom s 41% odstranitelností, což je celkem problém, jelikož náhrady za PFAA mají kratší řetězce a tvoří většinu koncentrací ve zdrojové vodě. Z této studie vyplývá, že i když mají filtry s aktivním uhlím různou výkonost, tak mohou stále zajistit určité odstranění PFAS z pitné vody za nízkých investičních nákladů, oproti účinnějším a dražším filtrům s reverzní osmózou.

2.5.2 Biouhel

Další potenciální možností zbavení se PFAS z vody je použití biouhlu, což vyzkoušeli ve studii [23], kde používali kuličky z biouhlu a alginátu (skládaly se 2 % CaCl_2 , 2 % alginátu a 3 % různého biouhlu), přičemž biouhel byl buď bez předúpravy (označení NT) nebo s předúpravou (buď se síranem amonným (AS) nebo hydrogenfosforečnan diamonný (DAP)). Bylo zjištěno, že všechny tři formy dosahovaly účinnosti > 80 %, přičemž NT kuličky ji měly největší a to až 99 %. Dále bylo zjištěno, že NT a AS kuličky lépe odstraňovaly PFAS s dlouhými řetězci, z důvodu jejich větší hydrofobocity, oproti těm DAP, které měly účinnost menší. Následně byly vyzkoušeny i různá množství NT-biouhlu (1, 2 a 3 %), které vykazovaly účinnost 58,1 %, 93,6 % a 99,9 %, navíc NT kuličky projevily účinnost odstranění PFOS s 99% odstraněním za < 16 h. Ale stejně jako u filtrů v předešlé části nastal problém při odstranění PFAS s kratšími řetězci, u kterých došlo k nižšímu pohlcení kuličkami než u PFAS delšími řetězci.

2.5.3 Pokročilé oxidační procesy

Ve studii Ersan a kol. [5], kde používali pokročilé oxidační procesy (AOPs), porovnávali koncentrace PFAS mezi neupravenou podzemní vodou a upravenou pomocí AOPs (UV, UV/ H_2O_2 a $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, UV/ TiO_2 , UV/ BN a UV/ TiO_2+BN). Avšak aplikace AOPs neměla žádný pozitivní vliv na PFAS koncentrace, ale naopak jejich koncentraci ještě zvýšila. Po ošetření prostřednictvím UV, UV/ H_2O_2 byl nárůst u PFHpA (631 % a 318 %), PFHxA (571 % a 329 %), PFPeA (419 % a 304 %) a PFOA (193 % a 64 %), toto bylo zapříčiněno tím, že PFAS s delšími řetězci byly přeměněny na PFCA s kratšími řetězci, což způsobilo zvýšení jejich koncentrace, přičemž ošetření pomocí UV způsobilo větší přírůstek koncentrace cílených PFAS než u ošetření pomocí UV/ H_2O_2 . Při použití $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ došlo ke změně koncentrace PFAS (< 5 %), ale došlo jenom k posunu jejich distribuce od delších ke kratším řetězcům. Následně při ošetření pomocí UV/ TiO_2 , UV/ BN a UV/ TiO_2+BN došlo k navýšení PFAS z 920 ng/l na 2 768, 2 358 a 1 525 ng/l, ale došlo i ke změně distribuce cílových PFAS. U UV/ TiO_2 došlo ke zvýšení koncentrace PFOA oproti těm s obsahem BN, kde došlo k 89% a 94% odstranění PFOA, a navíc u kombinace tří fotokatalyzátorů došlo k úplnému odstranění PFDA, PFNA, PFPeS a kyseliny perfluorobutansulfonové (PFBS) pod meze detekce (2 ng/l). I když u UV/ TiO_2+BN došlo ke zvýšení absolutní koncentrace cílových PFAS, tak zároveň to vedlo k zjištění skutečné přítomnosti známých PFAS.

2.6 PFAS v enviromentálním prostředí

Z důvodu jejich fyzikálně-chemických vlastností a širokého používání se dají najít ve všech oblastech světa, živých organismech, ale i v tělech lidí. PFAS jsou extrémně odolné vůči tepelnému, chemickému a biotickému rozkladu, což má za následek jejich perzistenci v životním prostředí, ale za určitých podmínek mohou podléhat částečnému rozkladu, který vede ke vzniku PFAS s ještě větším dopadem. Příkladem může být atmosférická oxidace fluorotelomerních alkoholů, přičemž vznikají polyfluorované aldehydy, které se nadále přeměňují na PFCA. V životním prostředí se mohou PFAS vyskytovat jako nečistoty z průmyslových procesů nebo z likvidací výrobků s obsahem PFAS, ale mohou se tam i dostat z biotické a abiotické degradace nebo biotransformačních procesů molekul jako jsou PFAS s delšími řetězci. Tyto látky jsou navíc amfifilní a bioakumulují se v tukových tkáních nebo v krevních řečištích živých organismů, přičemž kvůli jejich vysoké mobilitě jsou všudypřítomné. Důsledkem této mobility se dokáží vyluhovat do podzemních vod, do toků a oceánů, rozptylovat se větrem jako prachové částice a ve formě mokré a suché depozice do půdy [2].

2.6.1 Atmosféra

Většina PFAS má nízkou tendenci k odpařování kvůli jejich nízkému tlaku par, Henryho konstantě a vysokému bodu varu, oproti tomu více neutrální sloučeniny jako perfluoroktansulfonáty (FOSA), sulfamidoethanoly (FOSE), fluorotelomerní alkoholy (FTOH) a akryláty (FTAC) jsou více těkavé nebo polotěkavé a mají větší šanci se rozptýlit do atmosféry. V jedné studii v Německu [24], kde vzali vzorky z vnitřních prostorů škol a obytných budov, našli různé koncentrace FTOH, FTAC, n-ethyl/ n-methyl perfluoroktansulfonamidu (Et/MeFOSA) a n-ethyl/ n-methyl perfluoroktansulfonamido ethanolu (Et/MeFOSE), které měli za následek další neorální expozici. V jiné studii [25] posuzování výskytu v atmosféře přes Atlantik a Jižní oceán, bylo nalezeno 12 neutrálních sloučenin PFAS v koncentracích, které se pohybovaly v ovzduší mezi 2,8 až 68,8 pg/m³, přičemž FTOH převažovaly. Zároveň v tu dobu se měřilo i v severní části Jihočínského moře, kde našli čtyři typy PFAS z podskupin FTOH, FTAC, FOSA, fluoroktansulfonamidoethanolů (FASE), přičemž jejich koncentrace se v ovzduší pohybovaly v průměru kolem 54,5 pg/m³ [26]. V Japonsku, Číně a Indii pak analyzovali sezónní a místní změny PFAS adsorbovaných na částice v ovzduší a zjistili, že největšími přispěvateli k PFCA jsou ultrajemné částice, zatímco pro PFOS to jsou částice s největšími rozměry. Tento mechanismus by mohl mít za následek i rozptyl jiných PFAS jako třeba ty s kratší délkou řetězce ($C < 8$) [27]. Toto bylo i potvrzeno v jiné studii [28], kde byly vzaty vzorky z asijských měst, přičemž byla nalezena HFPO-DA s naměřenými koncentracemi od <0,086 až 21,5 pg/m³. Atmosférický rozptyl velice přispívá k transportu PFAS k různým enviromentálním mediím nebo receptorům, které se mohou nacházet daleko od zdroje emise a může být i přispívatelem vstupu PFAS do vodních a půdních ekosystémů skrz mechanismy mokré a suché depozice [2].

2.6.2 Hydrosféra

Kvůli tomu, že některé podskupiny PFAS jsou iontové s krátkými řetězci, což má za následek, že jsou vysoce rozpustné ve vodě a mohou se dělit na rozhraní voda-vzduch, a jiné s delšími řetězci se distribuují mezi voda-sediment a biotu, tak je možné je neustále detekovat ve velkém počtu ve vodních ekosystémech. Jelikož vody pokrývají dvě třetiny planety, jsou domovem pro velké množství živočichů a slouží i jako zdroj pitné vody, tak jsou také často konečným příjemce znečišťujících látek [2].

2.6.2.1 Sladká voda

Sladká voda, pod kterou patří jezera, řeky, mokřady, potoky a podzemní vody, tvoří jen malou část z celkového obsahu vody na Zemi, přesto je i tak stále nezbytná pro živé organismy a je nezbytně důležitá pro zmírnění proměnlivosti klimatu a cirkulaci energie, živin a organismů mezi ostatními složkami. PFAS byly nalezeny po celém světě v různých sladkovodních zdrojích. Třeba studie u Viktoriina jezera [29] a jeho zdrojových řek identifikovala PFOA a PFOS pocházejících ze zdrojů, jako jsou domácnosti a průmyslové odpady. V říčních vodách byly naměřeny koncentrace 0,1 až 96,4 ng/l a 0,4 až 13,23 ng/l, přičemž v jezeře byly naměřeny 0,4 až 11,65 ng/l pro PFOA a 0,4 až 2,53 ng/l PFOS. A také na třech lokalitách zasažených průmyslovým a důlním znečištěním podél řeky Vaal v Jihoafrické republice byly naměřeny podobné hodnoty PFAS [30]. V provincii Hubei v Číně v řece Qing byly naměřeny proměnlivé koncentrace 12 různých PFAS, přičemž v létě hodnoty byly nejvyšší a pohybovaly se v rozmezí 39,44 až 207,59 ng/l [31]. Závažné pro kontaminaci vod může být i použití vodní filmotvorné pěny (AFFF) během výcviku nebo mimořádných událostech, což potvrdila i studie ve Švédsku [32], která měřila koncentrace v okolí hasičských výcvikových zařízení. Zde našli ve vodách jezera 9 PFAS s průměrnou koncentrací kolem 1 700 ng/l a v sedimentech našli 6 různých PFAS s celkovou koncentrací v rozmezí <0,1 ng/g dw až 76 ng/g dw. V zálivu Port Philip Bay, v okolí města Melbourne v Austrálii, našli v povrchových vodách potoků 18 PFAS v koncentracích až 7,0 ng/l, 8,5 ng/l, 11 ng/l, 42 ng/l a 75 ng/l pro PFBS, PFOA, PFBA, PFHxS a PFOS [33]. V letech 1994-2013 byla pozorována časová změna koncentrací PFAS u řeky Rhone, která je brána jako hlavní zdroj sladké vody pro Středozemní moře. Zde pozorovali nárůst z 2 ng/g dw před rokem 1984 na 51,4 ng/g dw v roce 1994 a následovně pokles na 10 ng/g dw, tato hodnota zůstala stabilní od konce roku 2000. Náhlá změna koncentrace podle studie mohla být způsobena velkými povodněmi mezi lety 1990 až 2000, které zapříčinily zvýšený obsah písku a snížení obsahu organického uhlíku v základních vrstvách. Zároveň během měření bylo odhaleno více zdrojů kontaminace a také byly pozorovány změny výroby a použití PFAS [34]. Studie [35], která následovala v letech 2017 až 2018 sledovala čtyři druhy PFAS v řece a byly zjištěny vysoké koncentrace v rozmezích 13 až 200 ng/l pro celkový PFAS. Tyto hodnoty ukázaly, že docházelo k překračování průměrné roční evropské normy Enviromentální kvality (EQS) a usoudilo se, že řeka Rhone je významným zdrojem PFAS pro Středozemní moře [2].

2.6.2.2 Slaná voda

Slaná voda, která pokrývá 70 % povrchu Země a hraje velkou roli v biochemických cyklech, energetických tocích a biologické rozmanitosti, představuje hlavní environmentální receptor pro PFAS, kde se uvolňují a rozptylují skrze různé mechanismy [2].

V západní části Středozemního moře byla zkoumána časová a prostorová distribuce PFAS, přičemž bylo zjištěno 15 různých látek PFAS s koncentracemi naměřených v rozmezí 0,246 až 0,515 ng/l a nejčastěji byly detekovány PFHxA, PFHpA, PFOA, PFHxS a perfluoroktanoát (PFO) [36]. Ve studii [37] z roku 2020 identifikovali ve vodách Rudého moře 11 různých PFAS, které měly koncentrace až 956 ng/l. Ve studiích [38, 39, 40] byla zdokumentována přítomnosti PFAS i ve vodních organismech jako je mořský plankton nebo filtrující měkkýši, kde koncentrace specifických PFCA se pohybovaly kolem 1,36 ng/g ww. Vyšší koncentrace byly naměřeny v různých druzích žraloků a rejnoků ve Středozemním moři a to 27,1 ng/g ww [2].

2.6.3 Pedosféra

Do půdy se PFAS dostávají téměř vždy skrze nadzemní činnosti a při dopadu na půdu podléhají adsorpci, vypařování, biotransformaci, speciaci a absorpci. Hlavními zdroji kontaminace bývají atmosférické depozice, uvolňování AFFF, používání kontaminované vody a používání biosolidů nebo komunálních kalů v zemědělství. V zemích jako jsou USA, Čína a Japonsko, které jsou průmyslově nejrozvinutější, byl pozorován nejvyšší stupeň kontaminace půdy látkami PFAS. Celkové koncentrace, které byly naměřeny v těchto zemích, byly 13 ng/g dw, 14 ng/g dw a 36 ng/g dw [41]. Uvolňování látek PFAS může být velice důležité z důvodu jejich možné kontaminace potravin, a to hlavně pokud výrobny na PFAS jsou v blízkosti zemědělských pozemků, kde mohou být koncentrace v půdě až 200 ng/g a v jedlých plodech až 8 085 ng/g z důvodu bioakumulace [2, 42].

Dále se do půdy mohou dostat z rozptýlu do ovzduší, touto cestou se nejvíce dostávají neutrální těkavé sloučeniny PFAS nebo i iontové PFAS, které mají vysokou afinitu k pevným částicím. Tímto způsobem mohou migrovat ze vzdálených míst a následně se ukládat do vrchní vrstvy půdy. Studie Rankina a kol. [43], kde brali vzorky z 62 různých lokalit ze všech kontinentů, hodnotila výskyt PFAS, který nebyl způsobený přímo lidskou činností. Ve všech vzorcích byly nalezeny PFCA, a to v celkových koncentracích 0,029 až 14,3 ng/g dw, a PFSA v rozmezí od meze detekce po 3,27 ng/g dw. Další analýza ukázala, že nejvíce přítomné sloučeniny byly PFOA a PFOS s koncentracemi až 2,67 respektive 3,1 ng/g dw. Ve studii došli k závěru, že z důvodu mechanismů dálkových přenosů a zpětné depozice došlo k rozšíření některých druhů PFAS (hlavně neutrální PFAS a jejich prekurzory). V studii Chena a kol. [44] toto dokládají i u přenosu z bodového zdroje, kde v místě 2 komplexů pro výrobu fluoropolymerů v čínském městě Fuxin, prováděli analýzu. V blízkosti závodů byla koncentrace jedenkrát až dvakrát vyšší než zjištěná koncentrace daleko od těchto míst, a to v rozmezí 2,4 až 240 ng/g dw [2].

Výskyt PFAS v půdě byl studován i při úmyslném nebo havarijním úniku látek obsahujících AFFF. V těchto místech, které byly zasaženy, převládají PFOS a ty spolu s PFOA zde dosahovaly koncentrací až 6 500 ng/g. Dvěma důležitými aspekty pro tento způsob kontaminace je, že v jednom případě data poukázala na to, že prekurzory PFAA v podpovrchových vrstvách byly přeměněny na jiné prekurzory prostřednictvím speciace, oxidace nebo biotransformace [45]. Jiné údaje poukázaly, že rozsah kontaminace může ovlivnit míru průniku do půdy. V lokalitách, které nebyly tak zasaženy, byly PFOS nalezeny v hloubce 0 až 2 m, oproti tomu více zasažené lokality byly kontaminovány až do hloubky 4 m, což poukazuje různé mechanismy transportu [2].

Jiné studie se třeba i zaměřily na používání kontaminované vody na zavlažování a bylo zjištěno, že i toto může ovlivnit zemědělskou půdu, a tím pádem i plodiny. Třeba v letech 2013 až 2017 v Jižní Koreji byl hodnocen stav řeky Nakdong, kde byly zjištěny PFOA a PFOS v ročních průměrových koncentracích 26 až 112 ng/l v zavlažovací vodě a 818 až 1 364 ng/kg v půdě. Tyto hodnoty jasně poukázaly na překračování doporučených hodnot. Dále byl zdokumentován nález PFOA a PFOS v šesti druzích plodin (PFOA - 476; 809; 50; 56; 67 a 50 ng/kg; PFOS – 115; 4; 9; 87; 9 a < 1 ng/kg), a to, jak jejich příjem přispěl k expozici lidí [2, 46].

Bylo i studováno používání biosolidů neboli ošetřených kalů z ČOV nebo hnojiv pro zemědělské použití. Odhady uvádějí, že na evropské půdy se ročně aplikuje kolem 4,5 milionu tun, oproti tomu v USA je to 7 milionů a tato množství budou růst vzhledem k rostoucí populaci a cirkulární ekonomice [2]. ČOV bohužel nemůže účinně odstranit sloučeniny PFAS a ke všemu má potenciál podporovat jejich přeměnu na PFAA (převážně přeměna prekurzorů PFAS na PFAA, např. FTOH na PFBA, načež v tomto případě dochází ke zkrácení řetězce), což má za následek jejich akumulaci v pevné fázi zbytkového kalu [47]. Kontaminace půdy byla třeba zdokumentována ve studii Washington a kol. [48], kde v oblasti Decaturu v Alabamě porovnávali koncentrace PFAS ve vzorcích půdy, u kterých byl a nebyl aplikovaný kal. U půdy, kde kal byl aplikován, byly koncentrace až 5 000 ng/g dw. V novějších studiích se i ukazuje, že kromě starších PFAS se v kalech, půdě a zelenině, začínají objevovat i nové náhražky. Toto potvrzuje i studie od Semerad a kol. [49], která hodnotila ČOV v České republice a v kalech byly nalezeny PFAS s celkovou koncentrací 9 329,9 ng/g, kde převažovaly PFOS z cca 60 % a našly se tam i substituenty s krátkými řetězci jako GenX (HFPO-DA) a tvořily cca 20 % [2].

2.7 Toxické účinky u lidí

Jelikož se PFAS vyskytují prakticky všude, tak mají mnoho způsobů, jak se dostat do lidského těla nebo do jiných živých organismů. Jedny z nejdůležitějších cest expozice jsou vdechování vzduchu a prachových částic, kožní adsorpce a konzumace kontaminovaných potravin, přičemž za hlavní cesty pro běžnou populaci jsou považovány příjem pitné vody a potravin, ale v případě profesní expozice má větší podíl inhalace a dermální kontakt. Za největší přispěvatele expozice se považují PFOS, PFOA, PFNA a PFHxS a z toho důvodu Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) navrhla v roce 2020 opatření pro omezení jejich denního příjmu, a to na tolerovaný týdenní příjem 4,4 ng/kg tělesné hmotnosti pro sumu těchto čtyř látek. Látky PFAS představují riziko pro lidské zdraví, jelikož mohou vyvolat změny ve vývoji, metabolismu lipidů a hormonálním systému, karcinogenitu, imunotoxicitu, hepatotoxicitu a reprotoxicitu. Jelikož PFOS je jeden z největších přispěvatelů k expozici spolu s PFOA, tak

u nich byly identifikovány kritické účinky, přičemž u PFOS to je zvýšení cholesterolu v krvi u dospělých a u dětí snížení protilátkové odpovědi na očkování. U PFOA zvýšení cholesterolu a výskyt jaterního enzymu alaninaminotransferázy v krvi, zvýšené riziko pro diagnózu astmatu a také byla zařazena do skupiny "pravděpodobně karcinogenní pro člověka" na základě omezených dat ohledně toho, že by mohl zapříčinit rakovinu varlat a ledvin. U obou chemických látek se vyskytla snížená porodní hmotnost novorozenců. To, jaký potenciál má PFAS na zapříčinění negativních dopadů, má vliv podmínky expozice jako jsou například dávka/koncentrace, doba trvání, způsob expozice a charakteristiky organismu, který expozici podléhá, tam spadá třeba věk, pohlaví, zdravotní stav a genetické predispozice. Celkově u PFAS byly zjištěny endokrinní disruptivní účinky, což má vliv na plodnost, kontrolu tělesné hmotnosti, funkci štítné žlázy a mléčné žlázy. Dále byl zjištěn jejich vliv na vývojové účinky u dětí, kam spadá zrychlená puberta a změny chování, a jak bylo zmíněno, tak i snížená porodní hmotnost u novorozenců. Kromě již zmíněných rakovin ledvin a varlat, bylo spojeno s jejich dlouhodobou expozicí i rakovina prostaty a prsou. V neposlední řadě mají vliv i na metabolismus cholesterolu nebo mohou i snížit účinnost imunitního systému proti infekcím [2, 3, 8, 50].

2.8 Legislativa

2.8.1 Česká republika a Evropská unie

Česká republika sama o sobě žádnou regulaci pro PFAS ve vodě nemá a řídí se převážně legislativou, kterou navrhne a schválí Evropská unie a následně ji začleňuje do své legislativy. Z toho důvodu se Česká republika řídí Směrnicí evropského parlamentu a rady (EU) 2020/2184 ze dne 16. prosince 2020 o jakosti vody určené k lidské spotřebě, která vešla v platnost 1.1. 2022 a státy Evropské unie (EU) musely dodržovat její ustanovení do 12.1. 2023, přičemž musí zajistit opatření k splnění prahových hodnot PFAS do 12.1. 2026. Tyto prahové hodnoty („PFAS celkové“ a „suma PFAS“) byly určeny na limit 0,5 µg/l pro „suma PFAS“ (jedná se o sumu 20 PFAS, které jsou považovány za rizikové, zejména pokud se jedná o vodu určenou k lidské spotřebě, a také je to podmnožina „PFAS celkové“) a 0,1 µg/l pro „PFAS celkové“ (souhrn PFAS, musí být nejprve vypracováno), ale po vypracování technických pokynů pro „PFAS celkové“ se mohou státy EU rozhodnout, kterou z těchto dvou budou používat, či budou používat oboje. Prahová hodnota „suma PFAS“ zahrnuje vyjmenované PFAS v kapitole Metody stanovení PFAS v *tabulce 4*, tabulka zároveň zahrnuje detekční limity pro akreditované metody [13, 51, 52].

2.8.2 Spojené státy americké

Ve spojených státech amerických v zimě 2023 byla předložena finální verze Národního nařízení o primárních zdrojích pitné vody (NPDWR) k posouzení, která zahrnuje nové limity pro šest PFAS (PFOA, PFOS, PFNA, PFHxS, PFBS a HFPO-DA neboli GenX). V tomto návrhu je navržena cílová hodnota maximální úrovně kontaminace (MCLG) pro PFOA a PFOS na 0, ale s ohledem na proveditelnost a úpravu, mají i individuální Maximální úroveň kontaminace (MCL) ve výši 4,0 ng/l. Pro PFNA a PFBS je MCLG dáno ve formě Hazardního indexu (HI) z důvodu jejich známých toxických účinků a pravděpodobného výskytu v pitné vodě, tato hodnota je ve výši 1,0. Zároveň hodnotu MCLG ve formě HI 1,0 mají i PFBS a HFPO-DA a jakékoli směsi, které obsahují jednu z těchto čtyř látek [53, 54].

2.9 Metody stanovení PFAS

Tabulka 3: Metody stanovení PFAS

Matrice	Množství	Extrakce	dSPE/SPE	Analýza	Limit	Publikace
Sedimenty	2 g	QuEChERS - Ex. Činidlo: Acetonitrile - Způsob extrakce: Centrifuga, Vortex - Separační sůl: CH₃COONa, MgSO₄	PSA/C18	LC-MS/MS	0,05 ng/g dw	[55]
Voda, Pevný látky, Kaly, Vzorky tkáně	N/A*	SPE - Kondicionace: 0.3 % NH₄OH, Methanol - Nanášení: 4 ml/min - Eluce: 0,3 % NH₄OH v methanolu	WAX + GCB	LC-MS/MS	N/A*	[56]
Pitná voda	500 ml	SPE - Kondicionace: 0,1 % NH₄OH v methanolu, H₂O - Nanášení: 1 kapka/s - Eluce: 0,1 % NH₄OH v methanolu	Chromabond PFAS (RP/AEX)	LC-MS/MS	0,011-0,3 ng/l	[57]
Pitná voda	100-250 ml	SPE - Kondicionace: MeOH, 0,1 M vodný fosfátový pufr - Nanášení: 5 ml/min - Eluce: MeOH s 2 % NH₄OH	Strata-X-AW	LC-MS/MS	1,4-16 ng/l	[58]

* Nedostupná data

Tabulka 4: Limity akreditovaných metod [51]

PFAS	Zkratka	Standardní metoda [ng/l]	Nízko-limitní metoda [ng/l]
Perfluorobutanová kyselina	PFBA	10	2
Perfluoropentanová kyselina	PFPeA (PFPA)	10	0,3
Perfluorohexanová kyselina	PFHxA	10	0,3
Perfluoroheptanová kyselina	PFHpA	10	0,3
Perfluorooktanová kyselina	PFOA	5	0,3
Perfluorononanová kyselina	PFNA	10	0,3
Perfluorodekanová kyselina	PFDA	10	0,3
Perfluoroundekanová kyselina	PFUdA (PFUnDA)	10	0,3
Perfluorododekanová kyselina	PFDoA (PFDoDA)	10	0,3
Perfluorotridekanová kyselina	PFTTrDA	10	0,3
Perfluoro-1-butansulfonát draselný	L-PFBS	10	0,3
Perfluoro-1-pentansulfonát sodný	L-PFPeS	10	0,3
Perfluoro-1-hexansulfonát sodný	L-PFHxS	10	0,3
Perfluoro-1-heptansulfonát sodný	L-PFHpS	10	0,3
Perfluoro-1-oktansulfonát sodný	L-PFOS	5	0,3
Perfluoro-1-nonansulfonát sodný	L-PFNS	10	0,3
Perfluoro-1-dekansulfonát sodný	L-PFDS	10	0,3
Perfluoro-1-undekansulfonát sodný	L-PFUdS	10	1
Perfluoro-1-dodekansulfonát sodný	L-PFDoS	10	0,3
Perfluoro-1-tridekansulfonát sodný	L-PFTTrDS	20	1

2.10 Problémy s analyzováním PFAS

Kvůli složitým vlastnostem a nutnosti kvantifikovat PFAS ve stopových množstvích, představují PFAS pro chemickou analýzu řadu problémů. Jeden z nich je limitovaná existence standardních metod. Nejčastěji používaná metoda pro stanovení je metoda LC-MS/MS v negativním módu, přičemž v *tabulce 3* lze vidět různé postupy přípravy vzorků a jejich metody stanovení. Další problém představuje široké použití PFAS v průmyslovém odvětví a spotřebitelských výrobcích, proto se vzorky musí pečlivě hlídat, aby nedošlo ke křížové kontaminaci. Komplikace nastávají i v případě nedostatku referenčních standardů, což má za následek omezenou kvantifikaci PFAS ve vzorcích a tím pádem nastává limitace ve vědění o rozsahu kontaminace [59].

Jedním z dalších problémů při analýze může být použití vialek s víčky, které mají Polytetrafluorethylenová (PTFE) septa, nádobí z PTFE (kádinky) nebo využití dalších laboratorních pomůcek z PTFE (stříkačkové filtry, varné kamínky). Důvodem je, že mohou obsahovat stopové zbytky PFAA jako nečistoty vznikající z výroby [60, 61].

Z důvodu množství možné kontaminace nejenom z laboratorního prostředí, ale i ze samotné přístrojové vybavení, která má součástky z PTFE, se při analýze PFAS používá tzv. zbrzdňovací kolona. Tato kolona má za úkol zpomalovat zbytkovou kontaminaci PFAS, tím že zabrání koeluci PFAS se vzorkem jejich krátkodobým zpožděním (změnou retečního času) [62].

2.11 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), je analytická separační metoda používaná k separaci a kvantifikaci složek ve stanovovaných vzorcích. Nejčastější mechanismy používané k separaci jsou mechanismy adsorpční, rozdělovací, iontově-výměnné, gelové a afinitní chromatografie. Prostřednictvím chromatografie je možné analyzovat různé léčivé látky, pesticidy, hormony, proteiny, lipidy, PFAS, a mnohé další organické látky, avšak musí být rozpustitelné. Tato metoda je založena na separaci analytů na základě rozdělení mezi stacionární a mobilní fázi, které jsou vzájemně nemísitelné. Stacionární fáze je pevný adsorbent, který je zakotvený v koloně. Mobilní fáze proudí systémem a unáší sebou analyzovanou směs látek ze vzorku. K samotné separaci dochází na chromatografické koloně na stacionární fázi. Jednotlivé složky vzorku interagují se stacionární fází odlišně, což vede k odlišné rychlosti migrace složek, a tím pádem dochází k jejich separaci. Následně takto separované složky vzorku doputují do detektor. Výstupem měření je záznam zvaný chromatogram, který je grafickým znázorněním intenzity signálu v závislosti na objemu nebo častěji na čase, přičemž jednotlivé píky představují složky a jejich plochy jsou úměrné množství analytu [63, 64].

Součástí přístroje jsou nejčastěji skleněné, zásobníky na mobilní fázi. Před použitím rozpouštědel dochází k odplynování (s použitím membránového degasseru, který je umístěn za pumpou) [65-67]. V HPLC se používají pumpy bezpulzní a přesněji pumpy pístové zapojené sériově za sebou. V HPLC se používají dva módy, jak čerpat mobilní fázi, a to buď, že dojde v průběhu analýzy ke změně složení (gradientový mód) nebo složení zůstane stálé (izokratický mód). Vzorek je dávkován do zařízení autosamplerem nebo manuálně za přítomnosti vysokotlakového ventilu se smyčkou [65]. Kolona je vložena do termostatu, který kontrolou

teploty zlepšuje reprodukovatelnost výsledků a do jisté míry ovlivňuje i samotnou separaci. Se zvyšující se teplotou se snižuje viskozita, což vede ke snížení tlaku na koloně a potenciálně je možné pracovat za vyššího průtoku. Teplota zároveň ovlivňuje separaci, a to buď pozitivně nebo negativně v závislosti na analytu a dané koloně [66]. Kolony uvnitř termostatu jsou většinou trubice z antikorozivní oceli, speciálně tvrzeného borosilikátového skla nebo jejich kombinace, bývají o délce 5–30 cm s vnitřním průměrem 1– 4,6 mm a naplněny částicemi o průměru 2–5 μm , někdy až 1,6 μm . Částice v kolonách bývají různého typu (mikroporézní, perfuzní, neporézní, plně porézní a povrchově porézní). Typy kolon využívaných v HPLC jsou kolony s normální fází, reverzní fází, iontoměničové, hydrofilních interakcí (HILIC), velikostně vylučovací a mnohé další (hydrofobní interakcí apod.) [65-70].

Stacionární fáze kolony většinou tvoří anorganická matrice (silikagel, oxid hlinitý, pórovité sklo) se zakotvenými stacionárními fázemi, občas se používají jako výplň organické gely. V HPLC se často využívá systému obrácených fází nebo méně často systému normálních fází. V systému normálních fází je stacionární fáze více polární (např. nemodifikované silikagelové částice) a mobilní fáze nepolární rozpouštědlo (pentan, hexan). V obráceném systému fází je stacionární fáze méně nepolární (oktadecylsilan vázaný na silikagel) než mobilní fáze, která je polární (směs acetonitrilu s vodou a methanolu s vodou). Systém reverzních fází je zároveň častěji využívaný a jde u něj modifikovat pH vodné fáze, a to buď pomocí kyselin (kys. mravenčí, kys. octová), zásad (octan amonný, mravenčan amonný) nebo pH kombinací [65, 66].

Detektory využívané v HPLC:

- Fotometrické detektory (UV, VIS)
- Detektor diodového pole (DAD)
- Fluorimetrický detektor
- Elektrochemický detektor
- Vodivostní detekce
- Hmotnostní detekce (MS) [65]

2.12 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je účinný přístroj pro zjišťování informací o neznámých látkách jako je molekulová hmotnost, složení nebo struktura. Tato metoda je založena na interakci nabitých částic s elektrickým nebo magnetickým polem ve vakuu nebo jejich kombinací dle typu hmotnostního analyzátoru. Následně dochází k analýze iontů na základě rozdělení iontů podle poměru hmotnosti a náboje (m/z), přičemž poté dojde k dopadu na detektor, který převede informaci o počtu iontů na elektrický signál. Zastoupení iontů v závislosti na jejich m/z se poté vynáší do grafu kterému se říká hmotnostní spektrum. Hlavní součástí hmotnostního spektrometru je iontový zdroj (vznik iontů), analyzátor (separace iontů dle poměru hmotnosti a náboje), detektor a vakuový systém [71, 72].

2.12.1 Vakuový systém

Hmotnostní spektrometry fungují při velmi nízkém tlaku (vysokém vakuu) kvůli tomu, že ionty v plynné fázi jsou velmi reaktivní. Tím, že jsou ve vakuu se u nich snižuje možnost srážek s dalšími molekulami a zabraňuje se jejich reakcím, neutralizacím, rozptylu a fragmentaci, které by mohly způsobit interferenci v hmotnostním spektru a zároveň způsobuje, že ionty doletí na detektor. Při spojení LC-MS je kromě iontového zdroje, který je většinou udržován při atmosférickém tlaku, iontová optika, analyzátor a detektory jsou udržovány ve velmi vysokém vakuu. Toho je dosaženo pomocí dvou čerpacích stupňů, přičemž první tvoří rotační lamelová vývěva a druhý využívá olejovou difúzní vývěvu nebo turbomolekulární vývěvu [73, 74].

2.12.2 Iontový zdroj

Aby bylo možné vzorek analyzovat pomocí MS, musí nejprve dojít k ionizaci, a to lze dosáhnout řadou způsobů v závislosti na typu vzorku, cílovém analytu a požadovaném pracovním postupu [75].

Zdroje pro plynné vzorky

- Elektronová ionizace (EI)
- Chemická ionizace (CI)

Zdroje pro kapalné vzorky

- Ionizace elektrosprejem (ESI)
- Chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI)
- Fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI)

Zdroje pevné vzorky

- Laserová desorpční ionizace s asistencí matrice (MALDI) [66]

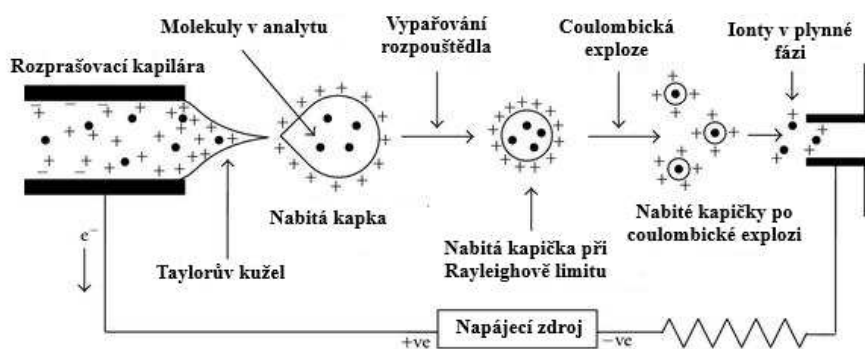
2.12.2.1 Ionizace elektrosprejem

ESI patří mezi měkké ionizační techniky, z důvodu přidání malého množství energie, přičemž během této techniky dochází k desolvaci nabitých kapiček vlivem tepla a proudění plynu, což má za následek jejich smrštění, rozdělení až po konečné převedení nabitých iontů do plynné fáze. Ve spektrech této techniky jsou převážně adukty, protované a deprotované molekulové ionty, které podle modu mohou být buď pozitivní nebo negativní ($[M + Na]^+$, $[M + NH_4]^+$, $[M + Cl]^-$, $[M + H]^+$, $[M - H]^-$). Náboj iontů lze změnit pomocí změny polaroty potenciálu, který je přiváděn na sprejovací kapiláru. Většinou platí, že zásadité sloučeniny jednodušeji tvoří kladné ionty a kyselé sloučeniny zase záporné ionty [66]. Během ionizace dochází k velmi malé fragmentaci, což je výhodné v tom smyslu, že sledovaný molekulový iont je pozorovaný téměř vždy [76].

Tato technika pracuje při atmosférickém tlaku a mírné teplotě (80–370 °C). ESI se dělí do tří hlavních kroků [77, 78]:

- Tvorba kapiček
- Desolvatace
- Převedení iontu z kapalné fáze do plynné fáze

Před tvorbou kapek nejprve vznikne Taylorův kužel, tím že se podobné nahromaděné náboje na povrchu kapaliny destabilizují a meniskus se deformuje do kužele. Vlivem vysoké intenzity pole dojde k vystřikování jemného nabitého proudu kapaliny z hrotu kapiláry, který se rozpadá na kapičky, směrem k protielektrodě (vstup do hmotnostního analyzátoru přes iontovou optiku). Než se dostanou ionty do hmotnostního analyzátoru, tak dochází k odpařování rozpouštědla a dochází k zmenšování velikosti kapky, dokud se nedosáhne Rayleighovy meze, překročení této meze má za následek, že povrchové napětí už neudrží Coulombovou odpudivou sílu a nastane tím pádem coulombická exploze a mateřská kapka se následně rozpadne na menší kapky a toto se opakuje tak dlouho dokud se nedojde k individuálním iontům. Tahle teorie se nazývá teorie vypařování iontů a byla doplněna teorií vypuzení iontů, kde při dosažení Rayleighovy meze dojde k deformaci kapičky a tvorbě kužele, z kterého vyletí kapičky, které obsahují malé množství hmoty a velké množství náboje a následně dojde k jejich stabilizaci. Pro popis vzniku iontů analytu v plynné fázi se využívá dvou mechanismů, a to model zbytkového náboje (CRM) a model odpařování iontů (IEM) [73, 79].



Obrázek 6: Proces elektrospreje – přeloženo z [73]

Ionty převedené do plynné fáze následně odchází z iontového zdroje do hmotnostního analyzátoru, kde jsou přitahovány protielektrodou, která je nabitá a prochází přes iontovou optiku (skimmer, fokusační čočka, multipól), která slouží k zaostření proudu iontů, a následně v hmotnostním analyzátoru jsou oddělovány na základě jejich poměru hmotnosti a náboje (m/z). Takto separované ionty jsou pak detekovány na detekčním systému [73].

2.12.3 Analyzátoři

Hlavní součást hmotnostního spektrometru tvoří analyzátor, který ve vakuu separuje ionty na základě poměru hmotnosti ku náboji (m/z). Existuje mnoho typů analyzátorů (viz *Tabulka 5*), ale všechny využívají statické nebo dynamické magnetické, či elektrické pole, případně jejich kombinace a všechny fungují podle dvou základních fyzikálních zákonů (Lorentzův silový zákona, druhý Newtonův pohybový zákon). Výběr hmotnostního analyzátoru závisí na jeho charakteristikách (rozlišení, hmotnostní rozsah, rychlost skenování, správnost určení hmoty atd.), tak aby vyhovovalo pro požadovanou aplikaci [73, 72].

Tabulka 5: Typy analyzátorů používané v MS [80, 81, 82]

Typ analyzátoru	Označení	Princip separace	Rozlišení	Hmotnostní rozsah	Správnost určení hmoty	Rychlost skenování
Magnetický sektor	B	Momentum	100 000	20 000	< 10 ppm	Pomalá
Kvadrupól	Q	m/z (stabilita trajektorie)	2 000	4 000	100 ppm	Střední
Iontová past	IT	m/z (rezonanční frekvence)	4 000	6 000	100 ppm	Rychlá
Analyzátor doby letu	TOF	Rychlost (doba letu)	5 000	> 1 000 000	200 ppm	Rychlá
Iontová cyklotronová rezonance	ICR	m/z (rezonanční frekvence)	500 000	30 000	< 5 ppm	Pomalá
Orbitrap	OT	m/z (rezonanční frekvence)	100 000	50 000	< 5 ppm	Pomalá

2.12.4 Jednoduchý kvadrupól

V kvadrupólu se kombinují čtyři tyče, na které se přivádí kombinace střídavého a stejnosměrného napětí, přičemž elektrody, které jsou naproti sobě mají stejnou polaritu. Na základě velikosti těchto napětí se ionty s určitou hodnotou m/z a stabilní šroubovicovou trajektorií se pohybují dále na detektor. Pokud má iont nestabilní trajektorií, tak je vychýlen a na detektor se nedostane. Tento analyzátor může pracovat ve dvou módech, a to buď ve skenovacím nebo v SIM (single ion monitoring). V prvním módu dochází ke kontinuální změně elektrického pole, a to má za následek proměření všech hodnot m/z za krátkou dobu a v druhém módu dojde k nastavení elektrického pole tak, aby mohly procházet jenom ionty s příslušnou velikostí m/z . První mód je méně citlivý oproti druhému, který se používá pro citlivou kvantifikaci předem zvolených látek [72].

2.12.5 Trojitý kvadrupól

Trojitý kvadrupól je tandemový hmotnostní spektrometr skládající se ze dvou sériově zapojených kvadrupólových hmotnostních analyzátorů, mezi kterými leží kvadrupól, který funguje jako kolizní cela. Hmotnostní spektrometry s trojitým kvadrupólem fungují na principu toho, že oba hmotnostní analyzátory (Q1 a Q3), skládající se ze čtyř paralelních kovových tyčí, jsou řízeny stejnosměrnými (DC) a radiofrekvenčními (RF) potenciály a kolizní cela je jen vystavena RF potenciálu. V kolizní cele dochází ke srážkám iontů, které jsou přiváděny z prvního kvadrupólu (Q1), s molekulami nebo atomy inertního, kolizního plynu, nejčastěji dusík nebo argon, za použití vyššího tlaku a urychlením iontů elektrickým proudem. Tyto srážky mají za následek fragmentaci na produktové ionty, z důvodu jejich zvýšené vnitřní energie, a tyto produktové ionty poté přecházejí do druhého kvadrupólu (Q3). Tomuto se říká kolizně indukovaná disociace [72, 83].

Trojitý kvadrupól má celkem čtyři mody:

Sken produktových iontů

První kvadrupól (Q1) je nastavený tak, aby propouštěl jenom ionty (prekurzory) o definovaném poměru m/z , které jsou následně fragmentovány v kolizní cele. V třetím kvadrupólu (Q3) dochází ke skenování produktových iontů v definovaném rozsahu m/z .

Sken prekurzorových iontů

První kvadrupól (Q1) postupně propouští do kolizní cely ionty se zvyšující se hodnotou m/z , kde následně dojde ke fragmentaci a třetí kvadrupól (Q3) nechá procházet pouze jeden specifický fragment.

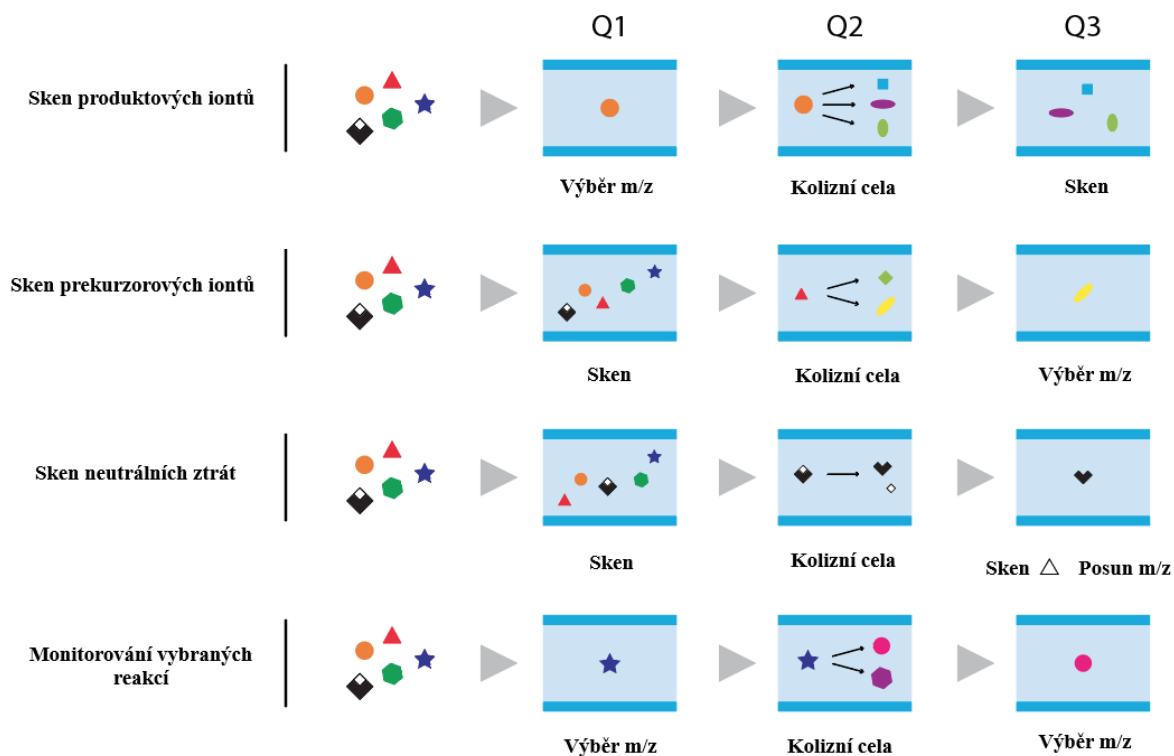
Sken neutrální ztráty

První a třetí kvadrupól (Q1 a Q3) skenují zároveň, ale s konstantním hmotnostním posunem, což má za následek rozpoznání iontů, což vede ke ztrátě specifických neutrálních fragmentů fragmentací v kolizní cele (Q2)

Monitorování vybraných reakcí

První a třetí kvadrupól (Q1 a Q3) jsou nastaveny na specifické hmotnosti, takže dojde k detekci různých fragmentovaných iontů z konkrétních prekurzorových iontů [72, 83].

Oproti SIM tento mód má lepší selektivitu a méně interferencí ze sloučenin a složek matric, přičemž i poskytuje nižší limity kvantifikace (LoQ) díky lepšímu poměru signálu k šumu [83].



Obrázek 7: Mody v trojitém kvadrupólu – přeloženo z [85]

2.12.6 Detektor

Z hmotnostního analyzátoru putují ionty přímo na detektor, který je převede na měřitelný signál. V závislosti na faktorech jako je dynamický rozsah, zadržení prostorové informace, šum a vhodnost pro hmotnostní analyzátor se používají různé typy detektorů. Mezi nejčastěji používané patří elektronový násobič s kontinuální dynodou [86].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Používané přístroje a zařízení

- Přístroj EVATERM pro sušení pod dusíkem, Labicom, (Česká republika)
- Laboratorní váhy Denver instrument
- Přístroj pro přípravu Milli-Q vody Milli-Q Millipore, Academic
- Zařízení pro SPE extrakci Baker SPE-12G, s vakuovou pumpou Barmann, Co., (USA)
- pH metr Orion star 1215, Thermoscientific (Česká republika)
- Kapalinový chromatograf UHPLC 1290 Infinity, Agilent Technologies (USA)
 - Zbrzdňovací kolona: Luna® Omega Polar C18 Phenomenex, (100 x 2,1 mm; 3 µm)
 - Separační kolona: ACQUITY UPLC® BEH C18 (50 x 2,1 mm; 1.7 µm)
- Hmotnostní spektrometr Bruker Evoq LC-TQ
- Automatické mikropipety
- Stříkačkové nylonové filtry 0,22 µm o průměru 13 mm, Chromservis (Česká republika)
- Stříkačky pro filtrování
- Membránové filtry Pragopor, velikost pórů 0,60 µm, Pragochema spol. s.r.o. (Česká republika)
- Běžné vybavení analytické laboratoře

3.2 Použitý software

- Microsoft Office Excel 365
- Microsoft Office Word 365
- Bruker Compass HyStar version 5.1.8.1, Bruker Daltonik GmbH 2019
- Bruker Daltonics MS Workstation version 8.2.1, Bruker Daltonik GmbH 2017
- TASQ version 2.2.14 1533, Bruker Daltonik GmbH 2018

3.3 Chemikálie, spotřební materiál a standardy

3.3.1 Rozpouštědla

- Milli-Q voda
- Methanol ≥ 99 % pro LC-MS, VWR International (Polsko)

3.3.2 Kyseliny a Zásady

- Kyselina mravenčí čistoty 98 %, Sigma Aldrich (Německo)
- Kyselina chlorovodíková čistoty 34–37 %, ANALPURE, Analytika (Česká republika)
- Kyselina octová čistoty min. 99,8 %, Sigma Aldrich (Německo)
- Hydroxid sodný čistoty ≥ 99,39 %, Lachner, Neratovice (Česká republika)
- Amoniak čistoty 30,8 %, VWR International (Francie)

3.3.3 Standard

- PFAS MIX 20 PFAS (vlastnosti viz *Tabulka 1*) – PFAC-MXA o čistotě > 98 %, Wellington laboratories (Kanada)

3.3.4 Technické plyny

- Dusík (4.7), Siad (Česká republika)
- Argon (5.0), Siad (Česká republika)

3.3.5 SPE extrakční kolony:

- Supelclean™, ENVI™ – 18 SPE Tubes 6 ml 500 mg, SUPELCO (USA)
- Supel™ – Select HLB 200 mg, 6 ml Tube, SUPELCO (USA)
- SpeExtra™ HLB Enviro SPE column, 200 mg, 6 ml, Chromservis (Česká republika)
- Oasis® HLB 6cc 200 mg, Extraction Cartidges, Waters Corporation (USA)
- Oasis® MAX 6cc 150 mg, Extraction Cartidges, Waters Corporation (USA)

3.4 Studovaná matrice

- Byla studovaná matrice vody – povrchová
- Vzorky byly odebírány do 2 litrových tmavých skleněných lahví
- Před zpracováním byly uloženy ve tmě při 4-5 °C

3.5 Příprava roztoků

3.5.1 Příprava pracovního roztoku

Pracovní roztok o koncentraci 200 ng/ml byl připraven odpipetováním 100 µl PFAS mixu 20 látek o koncentraci 2 000 ng/ml do vialky a následně bylo přidáno 900 µl MeOH.

3.5.2 Příprava kalibrační řady

Kalibrační řada se skládá z koncentrací 0,1, 0,5, 1, 2,5, 5, 10, 15 a 20 ng/ml, přičemž pro koncentrace 2,5 – 20 ng/ml bylo přidáno vypočítané množství z 200 ng/ml pracovního mixu. Koncentrace 0,1 – 1 ng /ml byly připraveny z kalibračního bodu 10 ng/ml.

3.5.3 Příprava zásobních roztoků

3.5.3.1 1% kyselina octová a mravenčí

Kyseliny byly připraveny přidavkem 1 ml do 100 ml odměrných baněk a doplněním po rysku MiliQ vodou.

3.5.3.2 1% NH₃ v MeOH a 5 % NH₃ v ACN:MeOH (60:40)

1 % NH₃ v MeOH bylo připraveno přidáním 4 ml amoniaku do 100 ml odměrné baňky a doplněno po rysku MeOH pro HPLC. 5 % NH₃ v ACN:MeOH (60:40) bylo připraveno přidáním 20 ml do odměrné baňky a následně doplněno po rysku připravenou směsí ACN:MeOH (60:40).

3.6 LC-MS/MS metoda

Pro stanovení mixu 20 PFAS byla použita LC-MS/MS. Použitý přístroj je zobrazen na *obrázku 8*. Během optimalizace LC-MS/MS metody, byla optimalizována celá řada parametrů (viz *Tabulka 6*) a to v módu SIM, konkrétně byly monitorovány $[M-H]^-$ ionty všech PFAS. Během optimalizace byl do LC-MS systému nastříkovan standard PFAS o koncentraci 100 ng/ml. Jednotlivé LC-MS parametry byly upraveny, tak aby byly jednotlivé PFAS, co nejlépe separovány a zároveň měly co nejvyšší odezvu. Proto byly vyzkoušeny různé kombinace mobilních fází, konkrétně různá organická rozpouštědla, různé pH hodnoty mobilní fáze, ale i koncentrace jednotlivých aditiv. Následně byly optimalizovány také parametry iontového zdroje, konkrétně napětí elektrospreje. Následně se přešlo k optimalizaci MRM metody, za tímto účelem byly provedeny měření ve skenu produktových iontů při různých kolizních energiích, čemuž následoval výběr nejintenzivnějších MRM přechodů při konkrétních kolizních energiích v souladu s dostupnou odbornou literaturou (viz *Tabulka 9*). Výsledky optimalizace se nachází v kapitole 3.7.1 v *tabulkách 7-9*



Obrázek 8: Kapalinový chromatograf Agilent 1290 Infinity a hmotnostní spektrometr Bruker Evoq LC-TQ

Tabulka 6: Optimalizační kroky pro LC-MS/MS

Číslo parametru	Parametr	Postupy
1	Mobilní fáze	2mM Acetát amonný v H ₂ O + MeOH
		0,1 % FA v H ₂ O + MeOH
		0,1 % FA v H ₂ O + ACN
		2mM Acetát amonný v H ₂ O + ACN
2	Mobilní fáze 2	0,01 % FA + MeOH
		0,1 % FA + MeOH
		0,05 % FA + MeOH
		0,1 % AA+ MeOH
		0,1 % AA in H ₂ O + 1 % AA in MeOH
3	ESI	2500 V
		3500 V
		4500 V

3.7 Optimalizace LC-MS/MS

3.7.1 Optimalizovaná metoda LC-MS/MS

Tabulka 7: Optimalizovaná metoda UPLC metoda pro stanovení PFAS ve vodní matrici

UPLC parametry		
nástřik vzorku	3 μ l	
průtok MF	0,5 ml·min ⁻¹	
teplota kolony	50 °C	
mobilní fáze	A: 0,1 % CH ₃ COOH v MQ	
	B: Methanol	
gradient mobilní fáze	t [min]	B [%]
	0,0	20
	0,5	20
	11,0	95
	13,0	95
	16,5	20
posttime na ekvilibraci kolony	0 minut	
flush port	OFF	

Tabulka 8: Optimalizovaná metoda ESI pro stanovení PFAS ve vodní matrici

ESI parametry	
iontový zdroj	elektrosprej (HESI)
napětí elektrospreje	4 500 V
ionizační mód (polarita)	pozitivní (ESI-)
Průtok pomocného plynu	25
Teplota pomocného plynu	200 °C
Průtok sušícího plynu	15
Teplota sušícího plynu	150 °C
Zmlžovač	65
Aktivního odtah	ON
Režim scanu	MRM
Tlak kolizního plynu	1,5 mTorr

Tabulka 9: Optimalizovaná metoda TQ pro stanovení PFAS ve vodní matrici

MS parametry										
Stanovovaný analyt	Retenční čas [min]	Kvantitativní přechod			Kvalitativní přechod			Kvalitativní přechod		
		Prekurzor m/z	Produkt m/z	Kolizní energie [eV]	Prekurzor m/z	Produkt m/z	kolizní energie [eV]	Prekurzor m/z	Produkt m/z	kolizní energie [eV]
L-PFBS	4,77	299,0	80,2	40,0	299,0	99,1	30,0			
L-PFDoS	12,61	699,0	98,9	40,0	699,0	79,9	40,0			
L-PFDS	11,24	599,0	80,0	30,0	599,0	98,6	40,0	599,0	230,1	40,0
L-PFH _p S	8,72	449,0	80,0	40,0	449,0	99,1	40,0			
L-PFH _x S	7,60	398,9	80,0	30,0	398,9	99,0	30,0			
L-PFNS	10,46	549,0	80,0	40,0	549,0	99,0	40,0			
L-PFOS	9,62	498,9	80,0	30,0	498,9	99,0	30,0			
L-PFPeS	6,40	349,0	80,0	30,0	349,0	99,1	30,0			
L-PFTrDS	13,14	749,0	168,5	40,0	749,0	99,1	40,0	749,0	79,9	40,0
L-PFUdS	11,97	649,0	99,0	40,0	649,0	80,0	40,0			
PFBA	1,80	213,0	169,0	5,0						
PFDA	10,50	513,5	469,0	7,5	513,5	219,0	10,0	513,5	268,9	10,0
PFdOA	12,00	613,0	268,9	2,5	613,0	318,7	2,5	613,0	568,9	2,5
PFHpA	7,50	363,0	319,0	5,0	363,0	168,9	10,0	363,30	119,0	15,0
PFH _x A	6,10	313,0	269,0	5,0	313,0	119,1	15,0			
PFNA	9,64	463,0	419,0	5,0	463,0	218,8	10,0	463,0	169,0	15,0
PFOA	8,50	413,5	368,8	7,5	413,5	169,3	10,0	413,5	218,5	10,0
PFPeA	4,20	263,0	218,0	5,0						
PFTrDA	12,68	663,0	618,9	5,0	663,0	169,2	30,0	663,0	269,1	20,0
PFUdA	11,31	563,0	519,2	5,0	563,0	269,1	10,0	563,0	218,7	20,0

3.8 Výsledná metoda pro extrakci PFAS z vody

Pro přípravu metody, použitou na extrakci PFAS z vody, byl jako inspirace použit postup metody z vědecký článěk [87]. Parametry tohoto postupu byly následně upraveny pro extrakci 20 PFAS z vody.

3.8.1 Výsledný optimalizovaný postup extrakce na pevnou fázi (SPE)

- Na vahách bylo naměřeno přefiltrovaných 500 ml vzorku vody (optimalizační krok č. 2).
- Pro SPE extrakci PFAS byla použita SPE kolonka – HLB Chromservis 200 mg (optimalizační krok č. 1).
 - Během kondicionace (průtok 1 ml/min) bylo na SPE kolonku nejprve naneseo 5 ml MeOH a poté 5 ml Milli-Q vody.
 - Pomocí hadičky byl nanášen vzorek (průtok 5 ml/min).
 - Po nanesení veškerého vzorku byla kádinka promyta 10 ml Milli-Q vody (průtok 1 ml/min), tento zbytek byl poté naneseo na kolonku a poté SPE kolonka byla propláchnuta 5 ml Milli-Q vody.
 - SPE kolonka byla následně sušena proudem vzduchu po dobu 5 minut.
 - Během eluce (průtok 1 ml/min) bylo na kolonku naneseo 2×5 ml MeOH (optimalizační krok č. 4), které poté protéklo přes SPE kolonku do 20 ml vialky.
- Vzorek ve vialce byl sušen proudem dusíku při 40 °C do sucha bez přesušení.
- Po vysušení došlo k rekonstituci objemu, tím že stěny vialky byly opláchnuty pomocí Pasterové pipetky 300 µl 100 % MeOH (optimalizační krok č. 3) a tyto objemy byly následně přefiltrován přes 0,22 µm Nylonové filtry do vialky s konickým dnem.

3.8.2 Optimalizační kroky při extrakci na pevnou fázi (SPE)

Jelikož dostupný MS přístroj na VUT FCH nedisponuje dostatečnou citlivostí pro detekci PFAS na úrovni ng/L, tak bylo nutné optimalizovat SPE metodu pro co největší zakoncentrování vzorku. Za tímto účelem bylo odzkoušena celá řada parametrů (viz *Tabulka 10*). Během optimalizace SPE bylo vycházeno z aplikačních listů společností prodávajících LC-MS instrumentaci a dostupných vědeckých publikací [87, 88, 89]. V průběhu optimalizace byl vždy měněn jeden parametr a byl vždy vybrán postup s nejvyššími výtěžnostmi PFAS.

Před použitím na reálných vzorcích se pracovalo s Milli-Q vodou, která byla spikována standardem a následně byla provedena extrakce. Od výtěžků spikované vody se odečítal blank nespikované vody, kvůli přirozené kontaminaci. Vzorky byly měřeny optimalizovanou LC-MS/MS metodou v kapitole 4.2.5 a výsledky jsou v kapitole 4.

Jelikož Oasis® MAX je na bázi aniontměniče (AEX), tak zde byly použity dva jiné postupy, jelikož se jedná o jiný typ kolonky. U prvního postupu bylo u vzorků pomocí kyseliny chlorovodíkové upraveno pH na 2, na kondicionaci byly použity 5 % NH₃ v 60:40 ACN:MeOH a 1 % kyselina octová v Milli-Q vodě, přičemž na eluci byl opět použit 5 % NH₃ v 60:40 ACN:MeOH. U druhého postupu bylo pH vzorků upraveno mezi 6-7, na kondicionaci byly použity 1 % NH₃ v MeOH a 1 % kyselina mravenčí, přičemž na eluci byl opět použit 1 % NH₃ v MeOH.

Tabulka 10: Optimalizační kroky

Číslo parametru	Parametr	Postupy
1	Výběr SPE kolonky	Supelclean™, ENVI™ – 18, 500 mg
		Supel™ – Select HLB, 200 mg
		SpeExtra™ HLB Enviro, 200 mg
		Oasis® HLB, 200 mg
		Oasis® MAX, 150 mg
2	Objem nanášeného vzorku	300 ml
		400 ml
		500 ml
3	Rekonstituční objem	300 µl
		400 µl
		500 µl
4	Eluční objem	10 ml
		20 ml

3.8.3 Validace optimalizované metody

Během validace, kdy byly použity optimalizovaná SPE metoda a LC-MS/MS metoda, byly posuzovány parametry LoD (limit detekce), LoQ (limit kvantifikace), výtěžnosti metody, matriční efekt a opakovatelnost metody.

- Limit detekce a kvantifikace se počítal dle rovnice č. 1 a 2.

$$\text{LoD} = 3 \cdot \frac{\text{SD Blank}}{\text{Směrnice kalibrační závislosti}} \quad (1)$$

- kde 3 je koeficient pro výpočet LoD vycházející z poměru S/N, směrnice kalibrace je směrnice kalibrační závislosti a SD blank je směrodatná odchylka blank vzorku.

$$\text{LoQ} = 9 \cdot \frac{\text{SD Blank}}{\text{Směrnice kalibrační závislosti}} \quad (2)$$

- kde 9 je koeficient pro výpočet LoD vycházející z poměru S/N, směrnice kalibrace je směrnice kalibrační závislosti a SD blank je směrodatná odchylka blank vzorku.
- Výtěžnost [%] extrakce se počítala podle rovnice č. 3.

$$\text{RR} = \frac{\text{Vzorek} \cdot \text{Rekonstituční objem}}{\text{Spikovaná koncentrace}} \cdot 100 \quad (3)$$

- kde vzorek je naměřená hodnota vzorku v ng/ml
- Matriční efekt [%] neboli změny pozorované při detekci nebo kvantifikaci analytu, pokud jsou ve vzorku přítomny další látky, se počítal podle rovnice č. 4.

$$\text{ME} = \frac{\text{Vzorek ME} - \text{SPE Blank}}{\text{Plocha kalibračního bodu 5 ng}} \cdot 100 \quad (4)$$

- kde vzorek ME je plocha naměřeného vzorku matričního efektu, SPE blank je plocha naměřeného blanku.

- Opakovatelnost [%] se spočítal z rovnice č. 5. z průměru výpočtu níže pro jednotlivé koncentrační hladiny.

$$RSD = \frac{\text{Odchylka}}{\text{Výtěžnost}} \cdot 100 \quad (5)$$

- Kde odchylka je vypočítaná odchylka výtěžnosti a výtěžnost je vypočítaná hodnota výtěžnosti pro daný spike.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

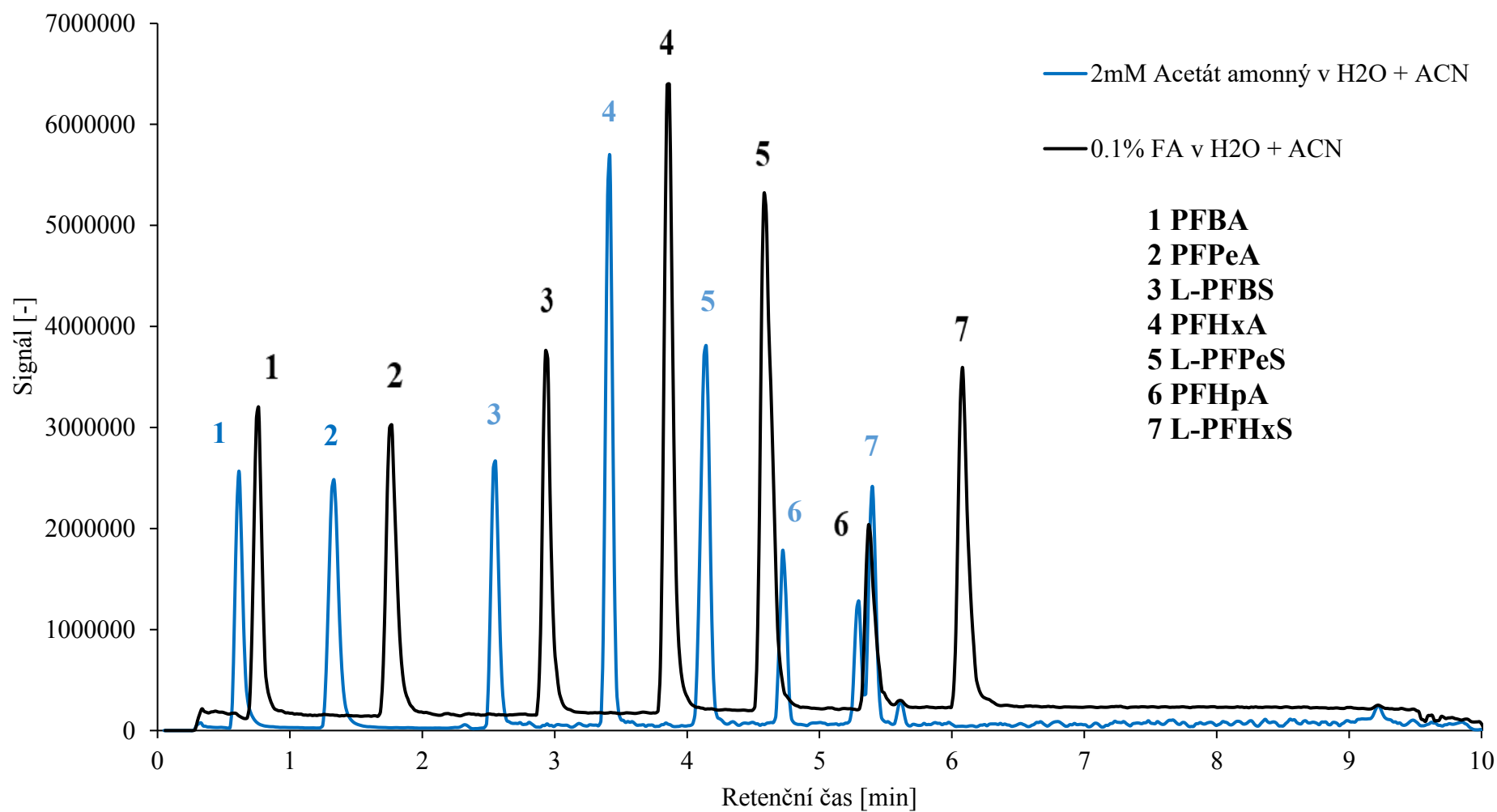
4.1 Optimalizace LC-MS/MS

4.1.1 Optimalizační krok mobilní fáze

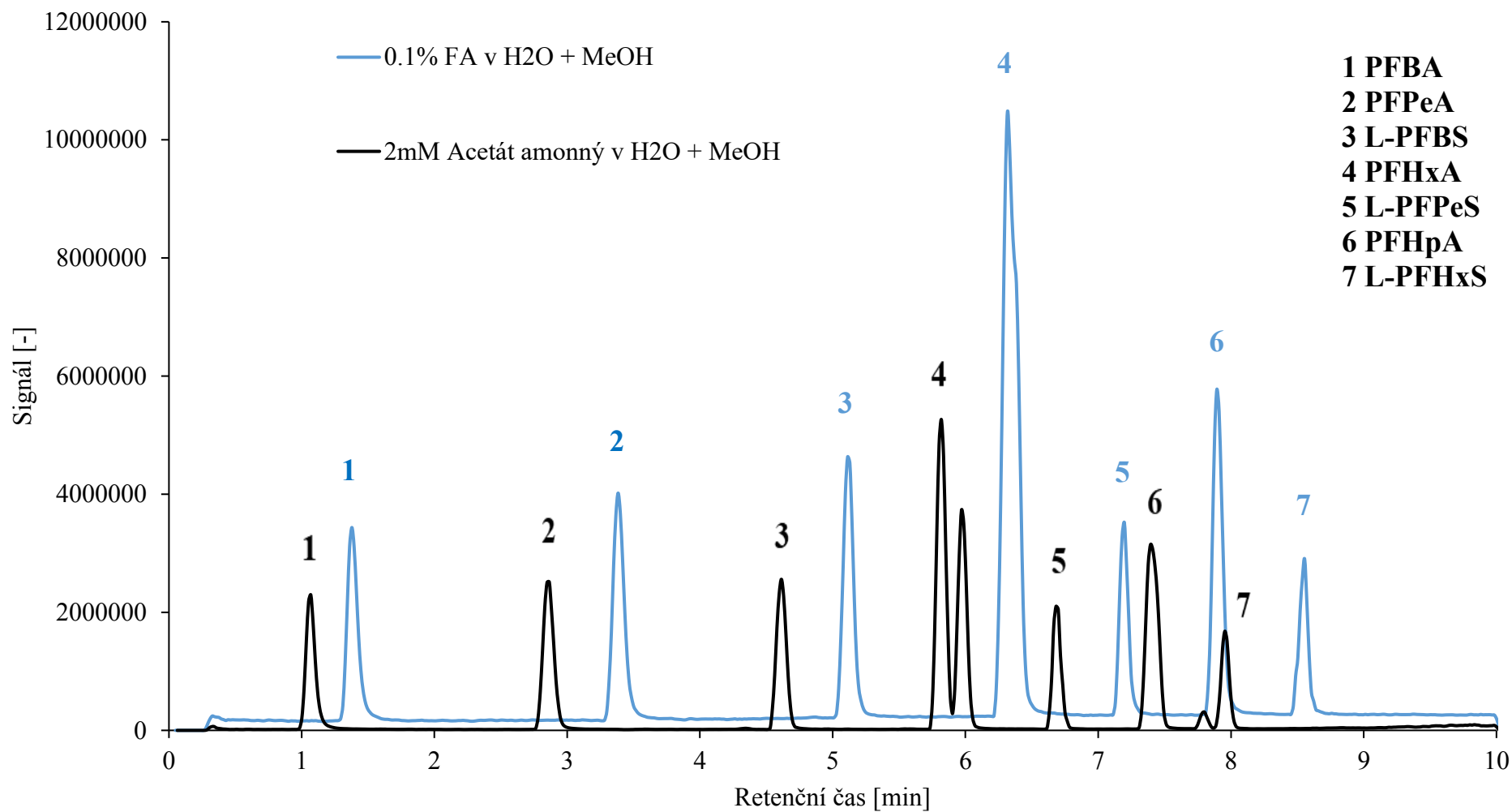
Porovnáním chromatogramů na *obrázku 9* můžeme vidět, že při použití acetonitrilu, který má vyšší eluční sílu, dosahujeme nižších retenčních časů (pro kyselinu mravenčí je to 0,60-6,50 minut a pro acetát amonný 0,45-5,80 minut). Oproti tomu na *obrázku 10*, kde se použil methanol zase dosahujeme z důvodu nižší eluční síly methanolu, vyšších retenčních časů (pro kyselinu mravenčí je to 1,15-8,90 minut a pro acetát amonný 0,80-8,30 minut). Z pohledu měření je, ale lepší kvantifikovat látky, které budou eluovat v retenčním čase, jehož hodnoty jsou ideálně alespoň dvojnásobkem mrtvého času, aby se předešlo problémům s kvantifikací, a aby byla zajištěna dostatečná separace. V mrtvém čase se eluují různé ionty a jiné polární látky, které mohou být přítomny ve vodě, z toho důvodu se začátek měření LC-MS/MS pouští do odpadu, aby nedošlo ke kontaminaci iontového zdroje. Z těchto parametrů je lepší použití methanolu.

Separaci může ovlivnit i pH, a jak můžeme vidět, PFAS mají různé pKa hodnoty (viz *Tabulka 1*). V našem případě se porovnávalo kyselé aditivum (kyselina mravenčí) a zásadité aditivum (acetát amonný), které se hojně používají v literatuře [90, 91]. Hodnota pH mobilní fáze ovlivňuje, v jakém stavu se nacházejí separované látky a jelikož PFAS jsou kyseliny, tak při nízkém pH je potlačeno odštěpení H^+ , což vede k jejich přesunutí do neutrálního stavu, čímž se stávají méně polární a mají větší retenci, zatímco při vyšším pH dochází k odštěpení H^+ , tím pádem jsou polárnější a mají menší retenci [92, 93]. Toto můžeme pozorovat na jednotlivých *obrázcích 9 a 10*, kde se použil methanol a acetonitril jako mobilní fáze. V případě methanolu nebyla vyšší jen retence, ale také i samotný signál, což je potřeba k dosažení co nejnižších instrumentálních limitů detekce a kvantifikace a zároveň je to důležité pro limity metody s přípravou vzorku pomocí SPE.

Z porovnání *obrázků 9 a 10*, kde se sledovala intenzita píku, rozsah retenčních časů, retence a signál jednotlivých stanovovaných sloučenin, se usoudilo, že nejlepší kombinací těchto parametrů má 0,1 % kyselina mravenčí ve vodě s methanolem, kde můžeme pozorovat oproti ostatním, že má dobrou retenci a zároveň vysoké odezvy jednotlivých analytů.



Obrázek 9: Chromatogram s různými mobilními fázemi – 2mM Acetát amonný v H₂O + ACN a 0,1 % FA v H₂O + ACN



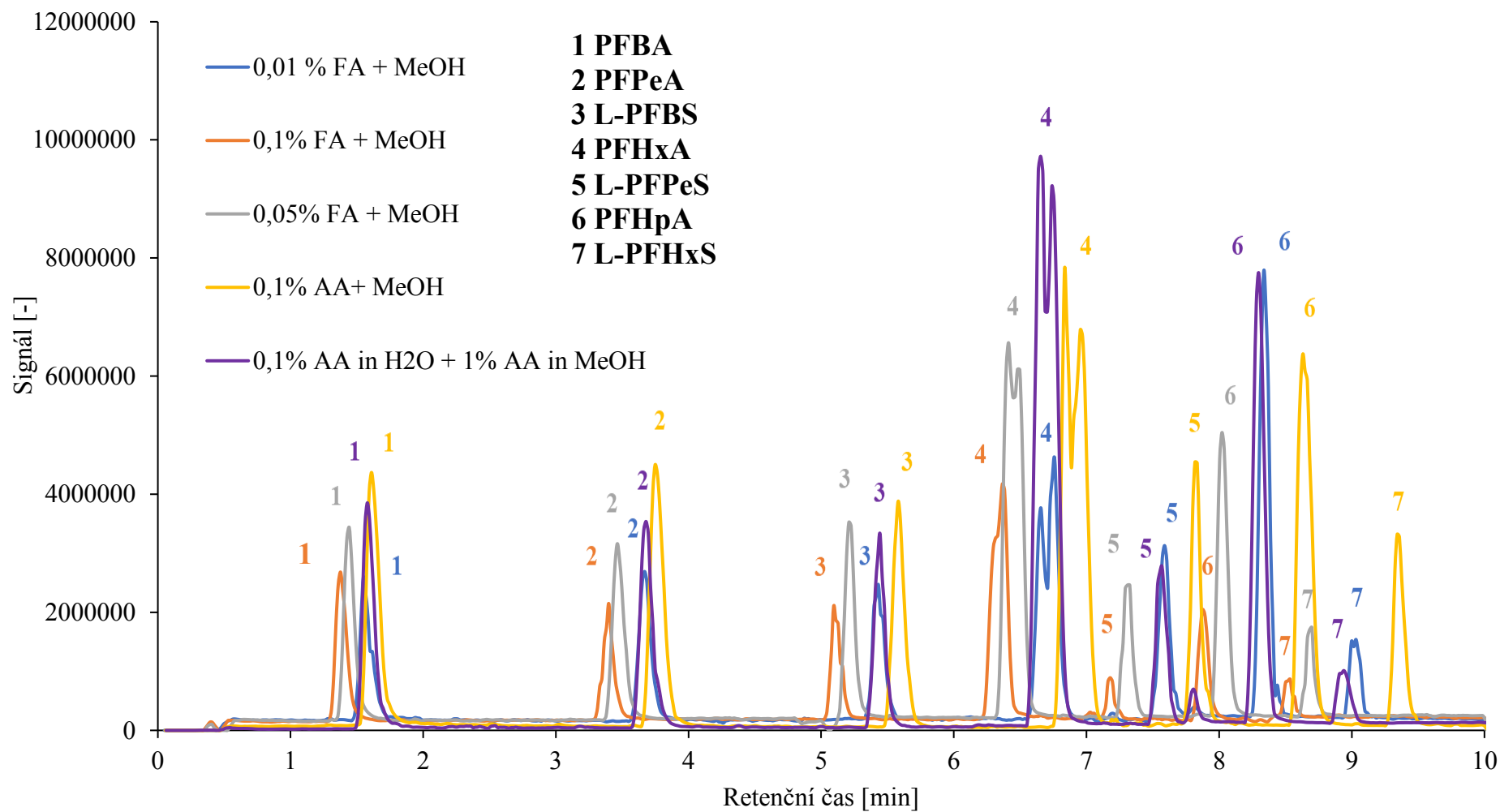
Obrázek 10: Chromatogram s různými mobilními fázemi – 2mM Acetát amonný v H₂O + MeOH a 0,1 % FA v H₂O + MeOH

4.1.2 Optimalizační krok mobilní fáze 2

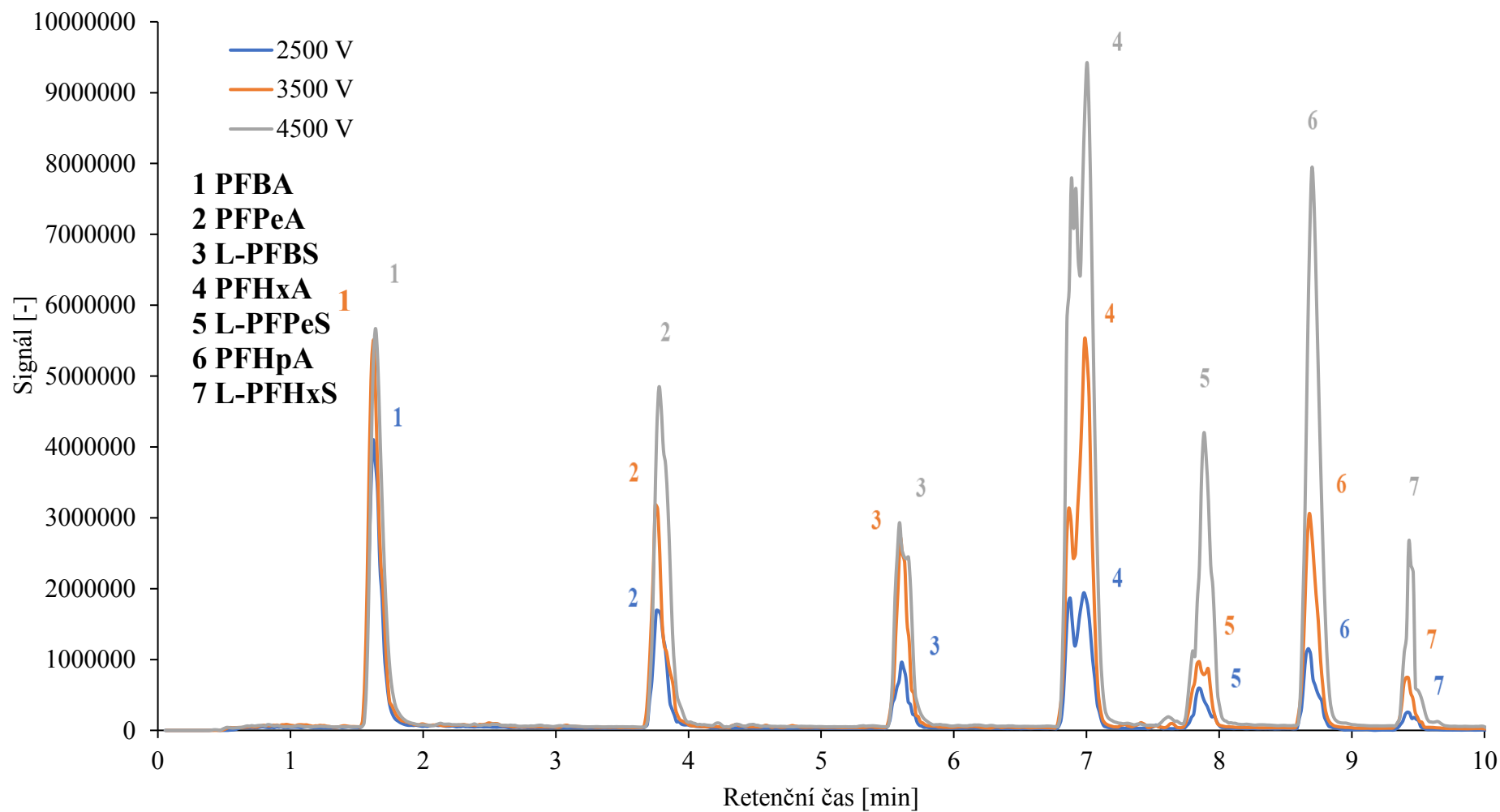
I přesto, že pH mobilní fáze ovlivňuje separaci, přesněji koncentrace jednotlivých kyselin, bylo účelem tohoto optimalizačního kroku zvýšení intenzity. V dostupné literatuře [90, 91, 94] a ze zkušeností v laboratoři se používá kyselina mravenčí (FA) nebo její alternativa kyselina octová (AA), která poskytuje vyšší odezvy v negativním módu ESI, při vyšší koncentraci, než je kyselina mravenčí. Jako nejvhodnější se ukázal přídavek 0,1 % kyseliny octové, možno pozorovat na *obrázku 11*. Následně byl vyzkoušen přídavek 0,1 % kyseliny octové do organické mobilní fáze, ale to mělo negativní dopad na ionizaci, z toho důvodu byla kyselina octová přidána jen do vodné fáze.

4.1.3 Optimalizační krok ESI

Standard PFAS o koncentraci 100 ng/ml byl proměřen při různých napětích na ESI v negativním módu, přesněji v SIM módu a byly sledovány $[M-H]^-$ ionty. Výsledné intenzity je možné sledovat na *obrázku 12*, kde nejvyšší intenzita byla dosažena při napětí 4 500 V.



Obrázek 11: Chromatogram – Optimalizace složení mobilní fáze, výběr aditiva (kyselina mravenčí a kyselina octová)



Obrázek 12: Chromatogram PFAS směsi při různých napětí ESI

4.2 Optimalizace extrakce na pevnou fázi (SPE)

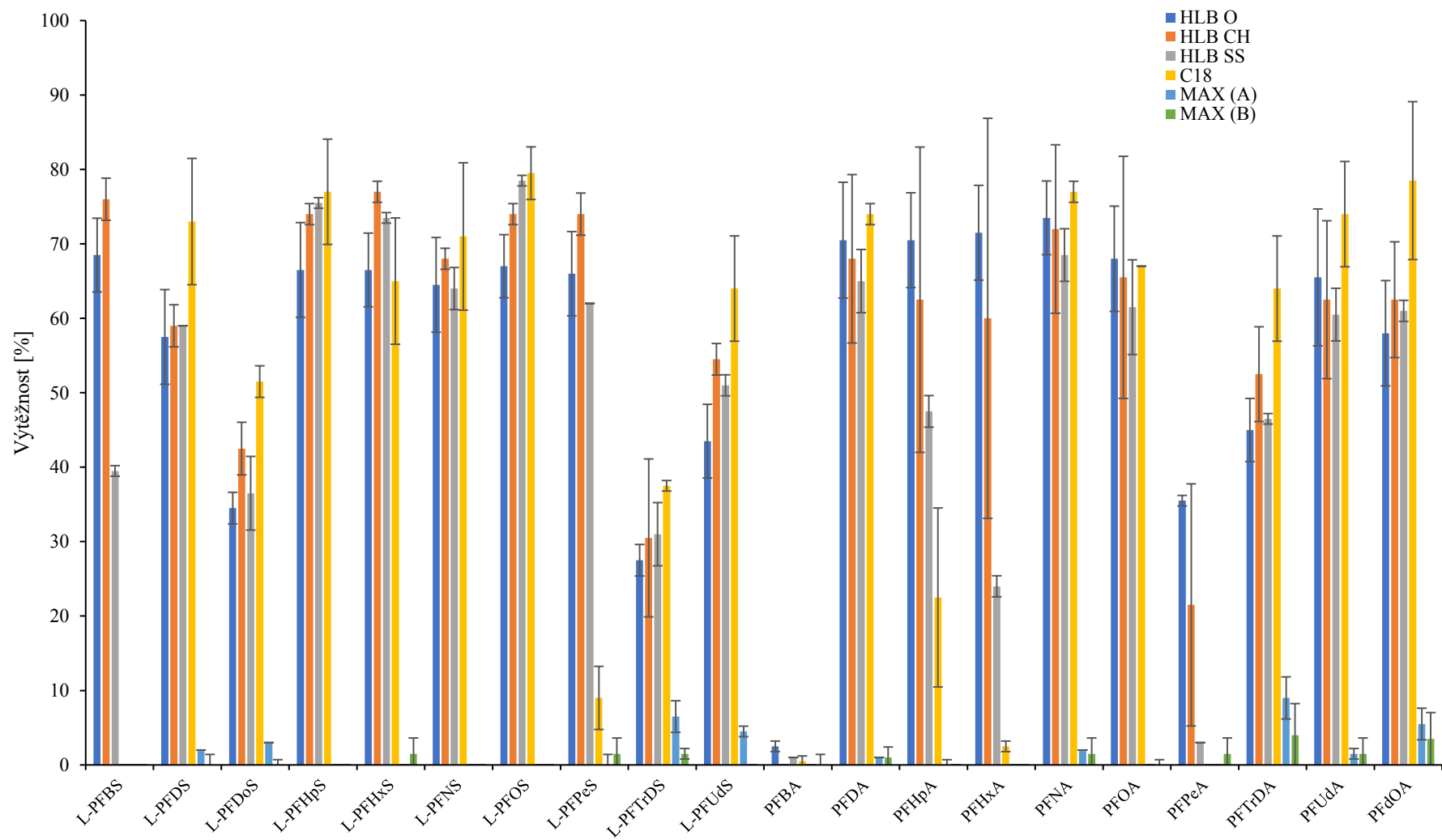
4.2.1 Optimalizační krok výběru SPE kolonky

V tomto optimalizačním kroku byly vyzkoušené různé SPE kolonky, a to jak na bázi aniontměníče (Oasis® MAX), tak na bázi reverzní fáze (Supelclean™, ENVI™ – 18). Kolonky byly vyzkoušeny od různých výrobců, ale i když se jmenovaly stejně, tak ve skutečnosti byl sorbent chemicky jiného složení. Přesné složení je kvůli výrobnímu tajemství nepřesné. Tento efekt různých sorbentů můžeme pozorovat na výtěžnostech extrakce na *obrázku 13*, kde nejvyšší průměrná výtěžnost byla dosažena s kolonkou SpeExtra™ HLB Enviro SPE column, 200 mg, a to $57,8 \pm 7,9 \%$.

Nejčastěji se v literatuře využívají kolonky se slabou aniontovou výměnou (WAX), z důvodu jejich schopnosti extrahovat PFAS s kratšími i delšími řetězci a mít zároveň i dobrou výtěžnost. Navíc sorbenty WAX mají vysokou afinitu ke kyselým funkčním skupinám (např. karboxylové a sulfonové kyseliny), které hodně PFAS obsahuje. Pokud však PFAS neobsahují aniontové funkční skupiny, tak stále mohou interagovat se sorbentem WAX jinými sorpčními mechanismy [95, 96].

Podobně jako v tomto optimalizačním kroku, zkoušely dvě studie schopnost SPE sorbentů extrahovat PFAS. Jedna studie [97] porovnávala MAX, HLB a další sorbenty a druhá studie [98] porovnávala C18, HLB a další sorbenty, přičemž u první studie stejně jako v tomto optimalizačním kroku se ukázalo, že MAX není vhodný pro extrakci PFAS kvůli jejich kyselé povaze a interakce s kvarterními aminy znesnadňovala jejich eluci. Zatímco v druhé studii stejně jako v tomto optimalizačním kroku bylo pozorováno u C18 lepší extrahování PFAS s dlouhými řetězci, ale z důvodu hydrofobních interakcí a polaritý některých PFAS horší výtěžky PFAS s kratšími řetězci. Oproti tomu extrakční fáze na bázi HLB (Modifikovaný polymer), které mají hydrofilně lipofilní povahu, ukázaly vyvážené pokrytí všech analytů, z důvodu lepší interakce jak s hydrofilní částí, tak i s hydrofobním koncem PFAS.

I když se standardně používají WAX sorbenty, tak z důvodu materiálů, které byly k dispozici se zvolila jako další nejlepší možnost použití SpeExtra™ HLB Enviro – Chromservis, kvůli jejich funkčnosti a výtěžkům.



Obrázek 13: Výsledky výtěžností pro jednotlivá SPE

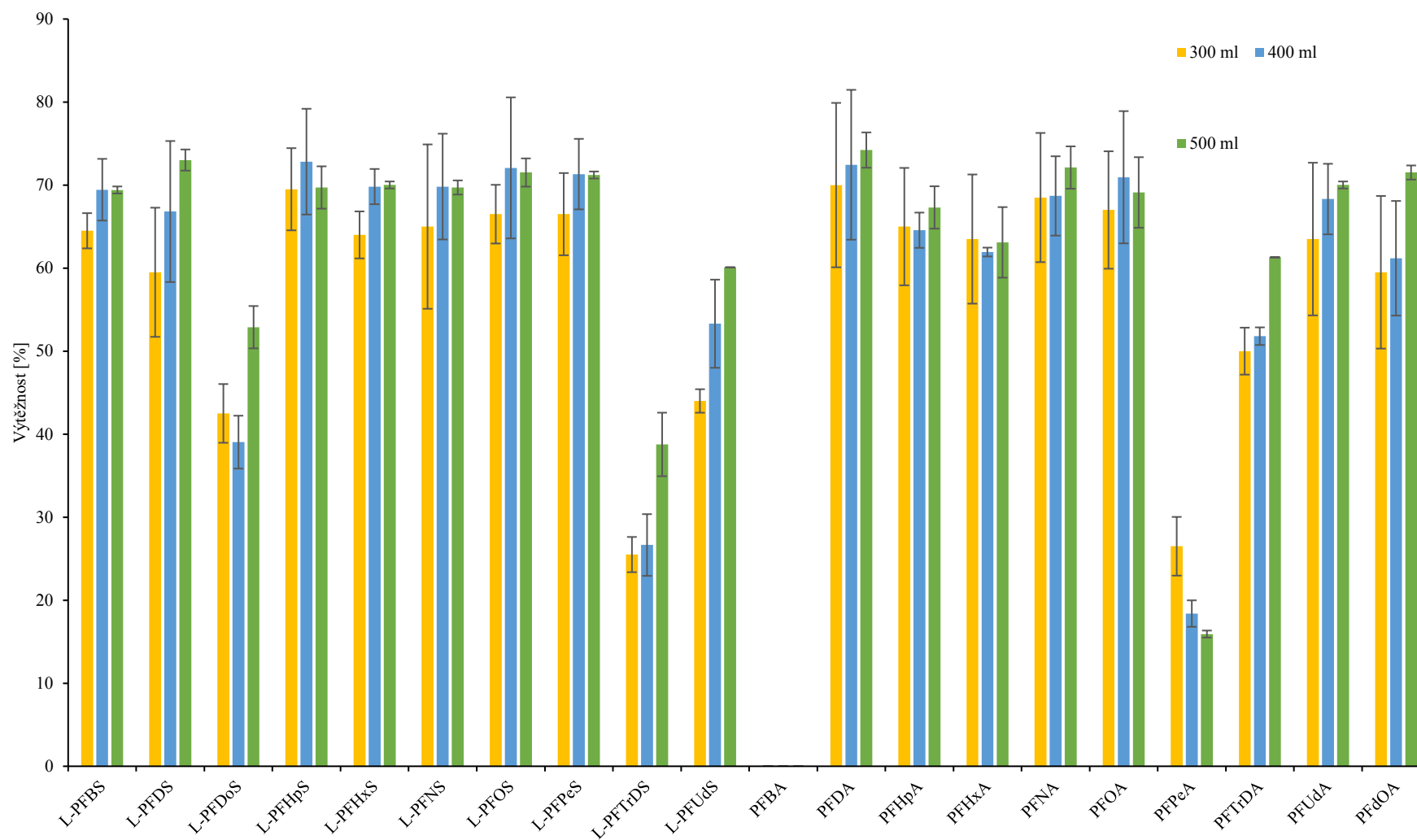
4.2.2 Optimalizační krok nanášeného objemu vzorku

Cílem tohoto optimalizačního kroku bylo nanesení co největšího množství vzorku, což povede k dosažení nižších limitů detekce a kvantifikace, poněvadž ve větším objemu vzorku je větší množství sledovaných analytů. Toto se musí otestovat z důvodu různého doporučení množství nanášeného vzorku v závislosti na použité SPE kolonce, přesněji na množství sorbentu, ale zároveň se musí dávat pozor, aby nedošlo k zhroucení sorbentu kvůli velkému množství vody, a také aby nedošlo k předčasné eluci analytů.

Z porovnání jednotlivých nanášených objemů, můžeme pozorovat, že výtěžnosti pro 300 ml se pohybují v průměru kolem $55,1 \pm 5,4$ %, pro 400 ml se pohybují v průměru kolem $57,5 \pm 4,5$ % a pro 500 ml průměrně kolem $60,5 \pm 1,6$ %. Z těchto hodnot můžeme vidět, že nejlepší výsledky měl objem o 500 ml pro účel dosažení limitů, jelikož významně nesnížil výtěžnost metody.

V literatuře můžeme vidět, že třeba u EPA metod [99, 100] používají nanášení vzorků v rozmezí 100–250 ml, a to samé u jedné studie [101], ale byly i použity množství 500 ml [102, 103]. Většina studií se, ale pohybuje v menších rozmezích z důvodu jejich lepšího instrumentálního vybavení.

Nevýhodou nanášení takto velkého objemu je, že kromě PFAS dojde k zakoncentrování i ostatních látek ve vzorkované vodě, takže může dojít k zanesení přístroje a tím pádem i dojde k zvětšení matričního efektu. Navíc větší objem vzorku se odráží v časové náročnosti přípravy vzorku.



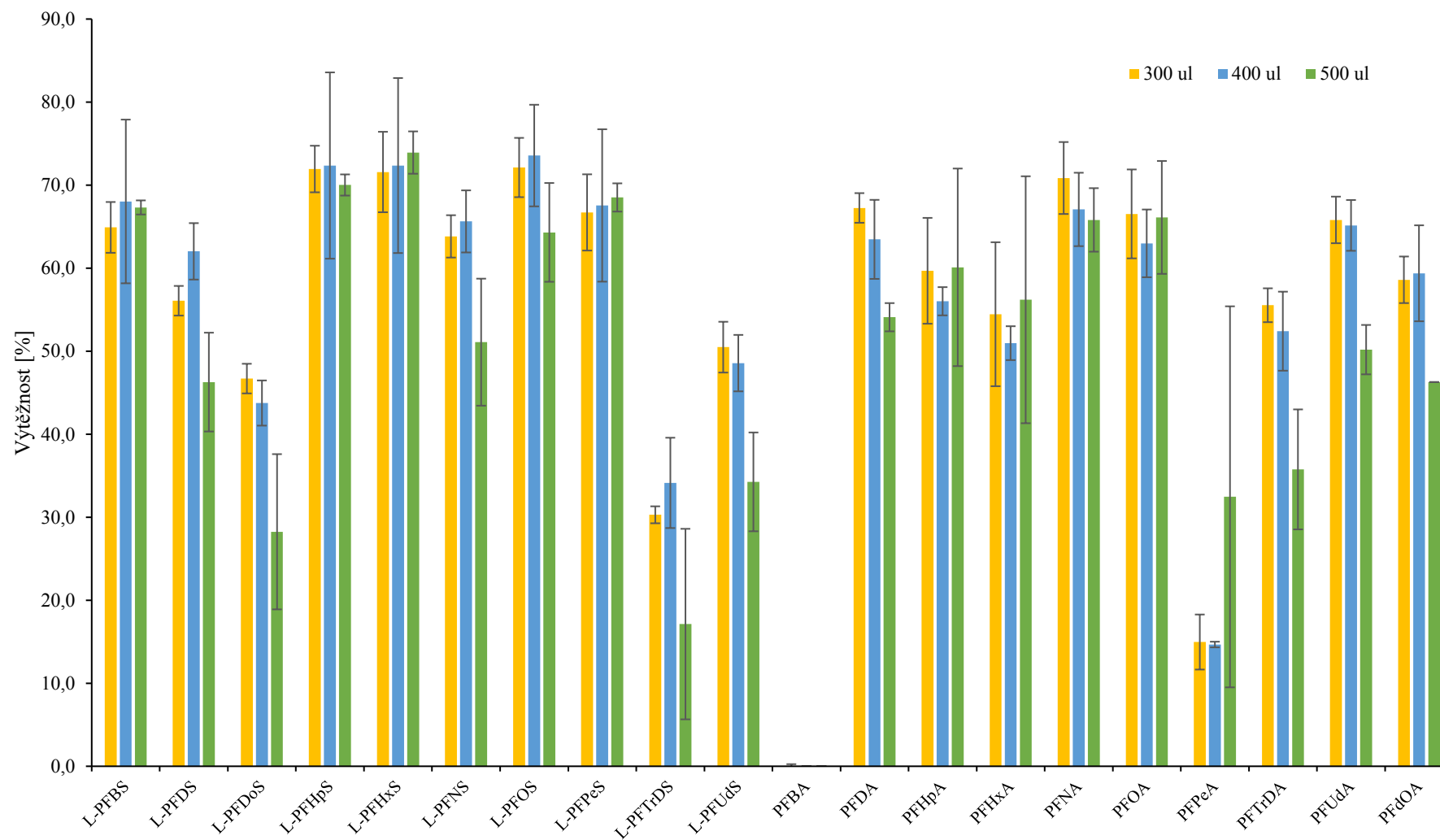
Obrázek 14: Výsledky výtěžností pro jednotlivé objemy nanášených vzorků

4.2.3 Optimalizační krok rekonstitučního objemu

U tohoto optimalizačního kroku byly vyzkoušeny různé rekonstituční objemy, kde se snažíme dosáhnout co nejmenšího rekonstitučního objemu k získání koncentrovanějších vzorků a tím detekovat menší množství PFAS ve vodě, z důvodu získání menších limitů detekce a kvantifikace. Nevýhodou menších objemů je, že čím menší objem tím dochází k většímu zakoncentrování matrice látkami, které nestanovujeme a může dojít k zanesení přístroje.

Z porovnání jednotlivých rekonstitučních objemů, můžeme pozorovat, že výtěžnosti pro 300 μ l se pohybují v průměru kolem $55,4 \pm 3,3$ %, pro 400 μ l se pohybují v průměru kolem $55,0 \pm 4,8$ % a pro 500 μ l průměrné kolem $49,4 \pm 6,2$ %. Z těchto hodnot můžeme vidět, že nejlepší výsledky měl objem o 300 μ l pro účel dosažení limitů.

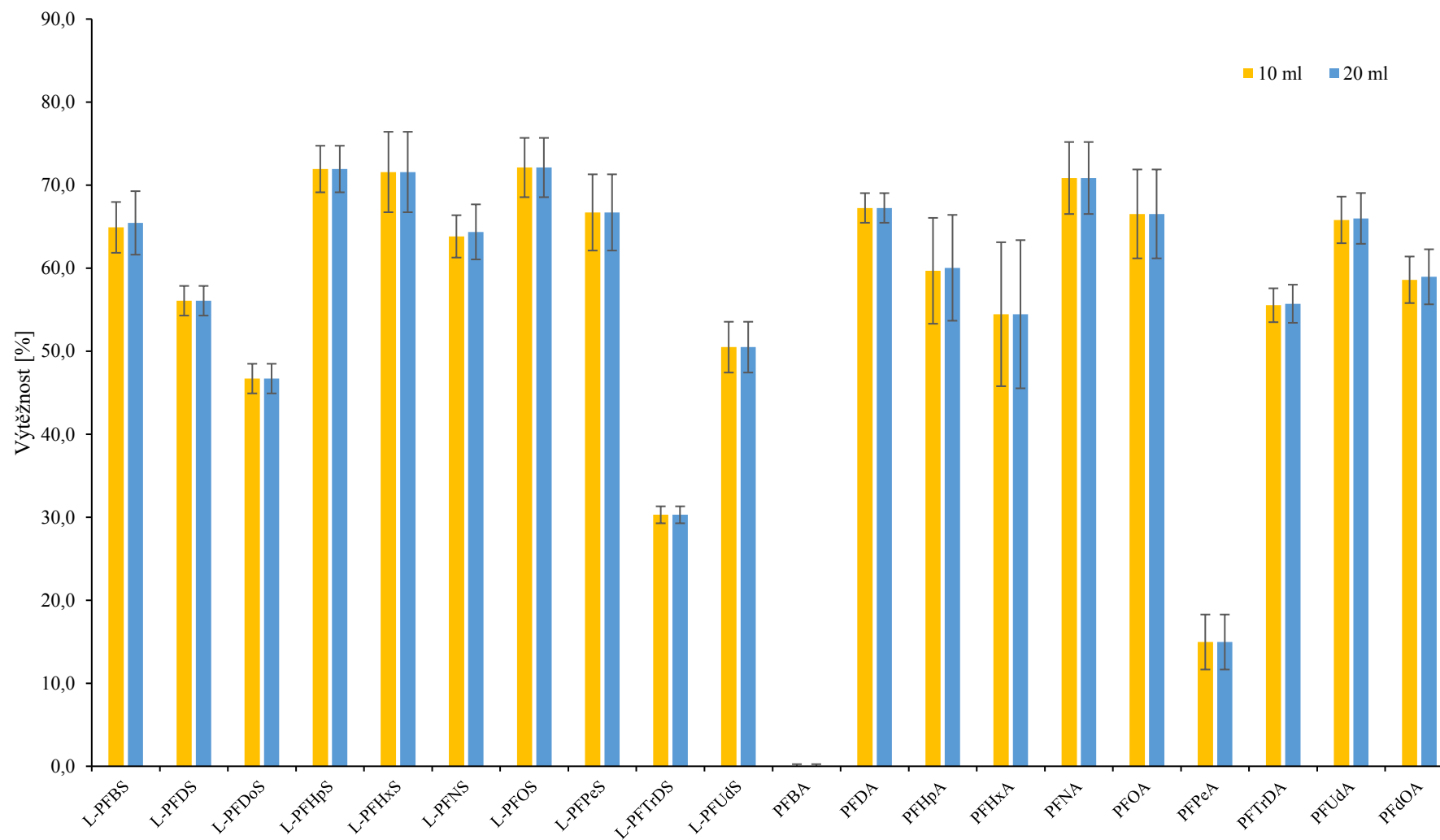
V literatuře pozorujeme, že třeba u EPA metod [99, 100] a studii [104, 105] se většinou používá rekonstituční objem 1 ml.



Obrázek 15: Výsledky výtěžností pro jednotlivé rekonstituční objemy

4.2.4 Optimalizační krok elučního objemu

Z důvodu nedosažení 100 % výtěžnosti, bylo vyzkoušeno, zda dochází k eluci všech PFAS z SPE kolonky, tím že nejprve byla vyzkoušena eluce s 10 ml, kde výtěžnost se pohybovala v průměru $55,4 \pm 3,3$ % a následně s 20 ml, kde průměrná výtěžnost byla kolem $55,5 \pm 3,5$ %. Z obrázku a průměrných výtěžností je vidět, že zvětšením elučního objemu došlo k zanedbatelným změnám, což dokazuje, že 10 ml objem je pro eluci všech PFAS dostatečný. Větší eluční objem navíc může mít za následek, že ve vzorku bude více matrice, což je pro jejich stanovení nežádoucí, kromě toho větší eluční objem má za následek potřebu více času pro odpaření vzorku, což je také nežádoucí. Z těchto důvodů byl nakonec vybrán eluční objem 10 ml.



Obrázek 16: Výsledky výtěžností pro první a druhou

4.2.5 Výsledky validace

Po upravení všech parametrů byla provedena validace pro ověření metody, kdy byly zjištěny limity detekce (LoD) a kvantifikace (LoQ), výtěžnosti (RR) na různých hladinách, opakovatelnost (RSD) a matriční efekt (ME). Výsledky LoD a LoQ se nachází v *tabulce 11*, přičemž hodnoty LoD jsou v rozmezí 0,02-2,17 ng/l a hodnoty pro LoQ jsou v rozmezí 0,06-6,52 ng/l. V porovnání s literaturou [106] a *tabulce 4* jsme dosahovaly podobných limitů, přičemž limit ve vodě pro směs námi stanovovaných PFAS je 0,5 µg/l, což by bylo možné naší metodou stanovit.

Výtěžnost koncentrace 2,5 ng/l se pohybuje kolem $31 \pm 3 \%$, pro koncentraci 5 ng/l je to kolem $22 \pm 3 \%$ a pro koncentraci 15 ng/l je to kolem $31 \pm 4 \%$, přičemž výtěžnosti se pohybují celkově v rozmezí 10-44 %, kromě sloučeniny PFBA, která měla výtěžnost 0 %, a sloučenin L-PFDoS a PFPeA, které měly nízké výtěžnosti, ale vysoké RSD. Tyto výtěžnosti nejsou pro tuto metodu ideální, jelikož by se měly pohybovat v rozmezí 70-130 %, což nesplňuje žádná sloučenina, ale většina z nich má velmi nízké RSD, čímž je to kompenzováno. Důvodů pro nízké výtěžnosti je více, a to třeba, že by byly lepší kolony WAX a celkově je problém dosáhnout vysokých výtěžností u spektra látek, které se liší vlastnostmi.

Vliv matričního efektu se pohybuje v rozmezí 77-110 %, kromě jedné sloučeniny a to L-PFTrDS, která měla matriční efekt 279 %. U devíti sloučenin byl matriční efekt větší než 100 %, což znamená že docházelo k enhanci signálu, takže došlo k nadhodnocení vzorku, u čtyř docházelo k supresi signálu, takže docházelo k podhodnocení vzorku a zbytek byl blízko 100 % takže matriční efekt nebyl pozorován. V literatuře [107, 108] jsou pozorovány jak suprese signálu, tak i enhance, jelikož celkem i záleží jaké metody jsou použity. Suprese nebo enhance signálu jsou způsobeny složkami vyskytujícími se společně s PFAS v maticích a jejich přítomností zasahují do ionizace cílového analytu a tím mění odezvu signálu. Toto se dá kompenzovat použitím vnitřních standardů, metodou standardního přídatku nebo matriční kalibrací. Vliv matričního efektu je potřeba řešit z důvodu přesné kvantifikace, které by nemělo být nadhodnoceno nebo podhodnoceno.

Opakovatelnost (RSD) vyšla u většiny stanovovaných sloučenin do 30 %, kromě PFPeA, která má 33 % a PFBA, které má natolik nízkou výtěžnost, že nešla naměřit. Kromě PFBA se daly všechny PFAS zvalidovat.

Tabulka 11: Výsledky validace, LoD = limit detekce, LoQ = limit kvantifikace, RR = výtěžnost, RSD = opakovatelnost, ME = matriční efekt

Název analytu	LoD [ng/l]	LoQ [ng/l]	RR 2,5 ng/l [%]	RR 5 ng/l [%]	RR 15 ng/l [%]	RSD [%]	ME [%]	ME odchylka [%]
L-PFBS	0,05	0,16	37 ± 1	31 ± 0	36 ± 4	5	99	8
L-PFDS	1,74	5,22	26 ± 2	18 ± 2	30 ± 3	10	110	3
L-PFDoS	1,04	3,11	16 ± 4	9 ± 1	20 ± 4	20	77	4
L-PFH _p S	0,31	0,93	42 ± 1	34 ± 0	39 ± 4	4	102	8
L-PFH _x S	0,04	0,11	38 ± 1	32 ± 2	39 ± 4	6	95	9
L-PFNS	2,17	6,52	27 ± 6	17 ± 2	31 ± 3	14	84	2
L-PFOS	0,74	2,23	37 ± 5	28 ± 0	38 ± 5	9	96	3
L-PFPeS	0,02	0,06	39 ± 0	33 ± 1	38 ± 4	5	101	9
L-PFT _{Tr} DS	1,84	5,51	44 ± 16	26 ± 0	27 ± 10	25	279	4
L-PFU _d S	1,00	2,99	17 ± 4	11 ± 1	25 ± 3	15	91	1
PFBA	0,56	1,67	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	-	103	7
PFDA	1,05	3,15	36 ± 2	25 ± 1	37 ± 4	8	95	1
PFH _p A	0,02	0,06	44 ± 2	29 ± 10	40 ± 7	19	99	7
PFH _x A	0,07	0,20	44 ± 1	26 ± 14	39 ± 8	25	102	9
PFNA	0,42	1,27	44 ± 2	33 ± 5	42 ± 6	11	100	8
PFOA	0,04	0,13	43 ± 2	32 ± 6	42 ± 6	13	97	7
PFPeA	0,09	0,28	15 ± 1	8 ± 6	11 ± 3	33	109	9
PFT _{Tr} DA	1,30	3,90	18 ± 2	12 ± 1	25 ± 3	11	81	6
PFU _d A	1,44	4,31	32 ± 3	21 ± 1	33 ± 3	8	105	3
PFdOA	1,50	4,49	25 ± 1	18 ± 1	31 ± 4	7	103	6

4.2.6 Analýza reálných vzorků

V této části bylo v plánu vyzkoušení optimalizované metody na reálných vzorcích vody, a to vody povrchové, odpadní, studniční a balené. Bylo vybráno několik míst z odkud by byla voda vzata, a to z Jevišovické přehrady, Jevišovky (pod přehradou), z Národního parku Podyjí (viz Obrázek 17), ze Svratky v Brně, z Brněnské přehrady, z odtoku ČOV v Brně a brněnskou kohoutkovou vodu. Z důvodu dlouhodobé poruchy přístroje se reálné vzorky nedoměřily.



Obrázek 17: Mapa míst odběru – vytvořeno v biorender

5 ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce byla řešena problematika PFAS nacházejících se v enviromentálních matricích. V teoretické části bylo pojednáváno o výrobě těchto sloučenin, možnosti kontaminace z různých zdrojů, vliv vlastností na jejich šíření, různé účinky toxicity a karcinogenity u lidí, možnost extrakce a stanovení a jak je jejich výskyt v životním prostředí řešen pomocí legislativy a jaké jsou udávané limity. Problematika PFAS je stále celkem novým problémem, který se začal pořádně řešit až začátkem 21. století, a i tak dosud se stále objevují další nové problémy, které tyto látky představují nejenom pro nás, ale i pro životní prostředí.

Experimentální část se zabývala optimalizováním metody pro stanovení směsi dvaceti PFAS ve vodní matrici, která se skládala z optimalizace extrakční metody pomocí SPE kolonek a optimalizace stanovení pomocí LC-MS/MS. Z literatury byl vybrán jako inspirace postup pro optimalizaci extrakce pomocí SPE kolonek, který byl následně optimalizován podle dostupných možností pomůcek v laboratoři. Optimalizační kroky, které byly prováděny na modelu spikované Mili-Q vody, se zabývaly porovnáním účinností různých SPE kolonek, objemů nanášených vzorků a rekonstitučních objemů, přičemž vždycky byl vybrán nejvhodnější z nich. Po dokončení všech optimalizačních kroků došlo k validaci metody, kde byl zjištěn LoD a LoQ, přičemž hodnoty LoD se pohybovaly v rozmezích blízkým těm uváděným v literatuře, a tím pádem by bylo pravděpodobné touto metodou je stanovit ve vodní matrici.

Následně po validaci měla být metoda vyzkoušena na reálných vzorcích, z Jevišovické přehrady, Jevišovky (pod přehradou), z Národního parku Podyjí, ze Svratky v Brně, z Brněnské přehrady, z odtoku ČOV v Brně a brněnskou kohoutkovou vodu. Z důvodu dlouhodobé poruchy přístroje nebylo možné reálné vzorky změřit a vyhodnotit.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

PFAS	Perfluorované a polyfluorované látky
POPs	perzistentní organické polutanty
PFOS	kyselina perfluoroktansulfonová
PFOA	kyselina perfluoroktanová
PFHxS	kyselina perfluorohexansulfonová
LC-MS/MS	spojení kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií
PFBA	Perfluorobutanová kyselina
PFPeA (PFPA)	Perfluoropentanová kyselina
PFHxA	Perfluorohexanová kyselina
PFHpA	Perfluoroheptanová kyselina
PFOA	Perfluorooktanová kyselina
PFNA	Perfluorononanová kyselina
PFDA	Perfluorodekanová kyselina
PFUdA (PFUnDA)	Perfluoroundekanová kyselina
PFDoA (PFDoDA)	Perfluorododekanová kyselina
PFTTrDA	Perfluorotridekanová kyselina
L-PFBS	Perfluoro-1-butansulfonát draselný
L-PFPeS	Perfluoro-1-pentansulfonát sodný
L-PFHxS	Perfluoro-1-hexansulfonát sodný
L-PFHpS	Perfluoro-1-heptansulfonát sodný
L-PFOS	Perfluoro-1-oktansulfonát sodný
L-PFNS	Perfluoro-1-nonansulfonát sodný
L-PFDS	Perfluoro-1-dekansulfonát sodný
L-PFUdS	Perfluoro-1-undekansulfonát sodný
L-PFDoS	Perfluoro-1-dodekansulfonát sodný
L-PFTTrDS	Perfluoro-1-tridekansulfonát sodný
ECF	Elektrochemická fluorace
PFC	perfluorované uhlovodíky

TFE	tetrafluorethylenem
GAC	granulované aktivní uhlí
PFCA	perfluorkarboxylová kyselina
PFSA	perfluoroalkylsulfonové kyseliny
PFEA	per- a polyfluoroalkyletherové kyseliny
HFPO-DA (GenX)	amonné soli kyseliny dimerní hexafluoropropylenoxidu
PFAA	perfluoroalkylová kyselina
NT	biouhel bez předúpravy
AS	biouhel se síranem amonným
DAP	biouhel s hydrogenfosforečnem diamonným
AOPs	pokročilé oxidační procesy
PFBS	kyselina perfluorobutansulfonová
FOSA	perfluoroktansulfonáty
FOSE	sulfamidoethanoly
FTOH	fluotelomerní alkoholy
FTAC	fluotelomerní akryláty
Et/MeFOSA	n-ethyl/ n-methyl perfluoroktansulfonamid
Et/MeFOSE	n-ethyl/ n-methyl perfluoroktansulfonamido ethanol
FASE	fluorooktansulfonamidoethanoly
AFFF	vodní filmotvorná pěna
EQS	evropská normy enviromentální kvality
PFO	perfluoroktanoát
ČOV	čistírna odpadních vod
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EU	Evropská unie
MCLG	Cílová hodnota maximální úrovně kontaminace
MCL	Maximální úroveň kontaminace
HI	Hazardní index

QuEChERS	metoda extrakce na pevné fázi pro detekci reziduí biocidů (Rychlý Snadný Levný Efektivní Odolný Bezpečný)
SPE	metoda extrakce na pevné fázi
dSPE	Disperzní extrakce na pevné fázi
PSA	primární a sekundární amin
WAX	Slabý aniontový měnič
GCB	grafitizovaná uhlíková čern
PTFE	Polytetrafluorethylen
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MS	Hmotnostní detekce
Q1	první kvadrupol
Q2	kolizní cela
Q3	druhý kvadrupol
DC	stejnoseměrný potenciál
RF	radiofrekvenční potenciál
MeOH	methanol
ACN	acetonitril
UV-VIS	ultrafialová a viditelná spektroskopie
EI	elektronová ionizace
CI	chemická ionizace
ESI	ionizace elektrosprejem
APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
APPI	fotoionizace za atmosférického tlaku
MALDI	desorpce a ionizace laserem za účasti matrice
B	magnetický sektor
Q	kvadrupol
IT	iontová past
TOF	analýzátor doby letu
OT	orbitrap

ICR	Iontová cyklotronová rezonance
LoQ	limit kvantifikace
LoD	limit detekce
RR	výtěžnost
ME	matriční efekt
RSD	opakovatelnost

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] History and Use of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) found in the Environment. Online. In: *Interstate Technology and Regulatory Council (ITRC)*. 2020. Dostupné z: https://pfas-1.itrcweb.org/wp-content/uploads/2020/10/history_and_use_508_2020Aug_Final.pdf. [cit. 2024-05-09].
- [2] PANIERI, Emiliano; BARALIC, Katarina; DJUKIC-COSIC, Danijela; BUHA DJORDJEVIC, Aleksandra a SASO, Luciano. PFAS Molecules: A Major Concern for the Human Health and the Environment. Online. *Toxics*. 2022, roč. 10, č. 2, s. 2.-3. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2305-6304/10/2/44>. [cit. 2024-03-01].
- [3] Perfluoroalkylové chemické látky (PFAS). Online. In: *Evropská agentura pro chemické látky*. B.r., Dostupné také z: <https://echa.europa.eu/cs/hot-topics/perfluoroalkyl-chemicals-pfas>. [cit. 2024-05-09].
- [4] HERKERT, Nicholas J., a et al. Assessing the Effectiveness of Point-of-Use Residential Drinking Water Filters for Perfluoroalkyl Substances (PFASs). Online. *Environmental Science & Technology Letters*. 2020, roč. 7, č. 3, s. 178-184. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.estlett.0c00004>. [cit. 2024-02-26].
- [5] ERSAN, Mahmut S., a et al. Advanced oxidation processes may transform unknown PFAS in groundwater into known products. Online. *Chemosphere*. 2023, roč. 449, s. 140865. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.estlett.0c00004>. [cit. 2024-02-26].
- [6] What are PFAS? Online. In: *Fidra*. © 2024. Dostupné z: <https://www.pfasfree.org.uk/about-pfas>. [cit. 2024-05-09].
- [7] SADIA, Mohammad a, et al. Occurrence, Fate, and Related Health Risks of PFAS in Raw and Produced Drinking Water. Online. *Environmental Science & Technology*. 2023, roč. 57, č. 8, s. 3062–3074. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.2c06015>. [cit. 2024-05-09].
- [8] STRAKOVÁ, Jitka. Perfluorované a polyfluorované látky (PFAS). Online. In: *Arnika*. 2020. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/perfluorovane-a-polyfluorovane-latky-pfas>. [cit. 2024-05-09].
- [9] SINCLAIR, Georgia M.; LONG, Sara M. a JONES, Oliver A.H. What are the effects of PFAS exposure at environmentally relevant concentrations? Online. *Chemosphere*. 2020, roč. 258, s. 127340. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653520315332>. [cit. 2024-05-18].
- [10] BENFORD, Diane a, et al. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. Online. In: *ResearchGate*. 2008, s. 127340. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/254917140_Opinion_of_the_Scientific_Panel_on_Contaminants_in_the_Food_chain_on_perfluorooctane_sulfonate_PFOS_perfluorooctanoic_acid_PFOA_and_their_salts. [cit. 2024-05-18].
- [11] RAHMAN, Mohammad Feisal; PELDSZUS, Sigrid a ANDERSON, William B. Behaviour and fate of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in drinking water treatment: A review. Online. *Water Research*. 2014, roč. 50, s. 318-340. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135413008518>. [cit. 2024-05-09].

- [12] PFAS — Per- and Polyfluoroalkyl Substances: Physical and Chemical Properties. *Online. In: Interstate Technology and Regulatory Council (ITRC). 2023. Dostupné z: <https://pfas-1.itrcweb.org/4-physical-and-chemical-properties/>. [cit. 2024-05-18].*
- [13] PubChem. *Online. 2024. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. [cit. 2024-02-29].*
- [14] *DIRECTIVE (EU) 2020/2184 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL: the quality of water intended for human consumption. Online In: Official Journal of the European Union, 2020, ANNEX I-ANNEX III. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32020L2184>. [cit. 2024-02-24].*
- [15] Guidechem. *Online. ©2010-2024. Dostupné z: <https://www.guidechem.com/>. [cit. 2024-02-29].*
- [16] BUCK, Robert C a, et al. *Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances in the Environment: Terminology, Classification, and Origins. Online. Integr Environ Assess Manag. 2011, roč. 7, č. 4, s. 513–541. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3214619/>. [cit. 2024-05-18].*
- [17] PFAS — Per- and Polyfluoroalkyl Substances: PFAS Uses and Products. *Online. In: Interstate Technology and Regulatory Council (ITRC). 2023. Dostupné z: <https://pfas-1.itrcweb.org/2-5-pfas-uses/>. [cit. 2024-05-09].*
- [18] PFAS in Building Materials. *Online. In: Green Science Policy Institute. © 2024. Dostupné z: <https://greensciencepolicy.org/our-work/building-materials/pfas-in-building-materials/>. [cit. 2024-05-17].*
- [19] How Does PFAS Contamination Impact the Environment? *Online. In: TRC Companies. © 2024. Dostupné z: <https://www.trccompanies.com/insights/pfas-contamination-environment/>. [cit. 2024-05-16].*
- [20] What products contain PFAS? *Online. In: Secondwind water. 2023. Dostupné z: <https://www.secondwindwater.com/blog/what-products-contain-pfas/>. [cit. 2024-05-18].*
- [21] PFAS in wastewater. *Online. In: Washington State Department of Ecology. © 1994-2024. Dostupné z: <https://ecology.wa.gov/waste-toxics/reducing-toxic-chemicals/addressing-priority-toxic-chemicals/pfas/wastewater>. [cit. 2024-05-16].*
- [22] *Reducing PFAS in Drinking Water with Treatment Technologies. Online. In: U.S. Environmental Protection Agency. 2018. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sciencematters/reducing-pfas-drinking-water-treatment-technologies>. [cit. 2024-02-27].*
- [23] MILITAO, Iarin Medeiros a, et al. PFAS removal from water by adsorption with alginate-encapsulated plant albumin and rice straw-derived biochar. *Online. Journal of Water Process Engineering. 2023, roč. 53, s. 103616. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214714423001332>. [cit. 2024-02-26].*
- [24] FROMME, Hermann a, et al. *Neutral polyfluorinated compounds in indoor air in Germany – The LUPE 4 study. Online. Chemosphere. 2015, roč. 139, s. 572-578. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653515007444>. [cit. 2024-03-01].*

- [25] WANG, Zhen a, et al. *Neutral Poly/Per-Fluoroalkyl Substances in Air from the Atlantic to the Southern Ocean and in Antarctic Snow*. Online. *Environmental Science & Technology*. 2015, roč. 49, č. 13, s. 7770–7775. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.est.5b00920>. [cit. 2024-03-01].
- [26] LAI, Senchao a, et al. *Neutral polyfluoroalkyl substances in the atmosphere over the northern South China Sea*. Online. *Environmental Pollution*. 2016, roč. 214, s. 449–455. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026974911630313X>. [cit. 2024-03-01].
- [27] GE, H. a, et al. *Particle size specific distribution of perfluoro alkyl substances in atmospheric particulate matter in Asian cities*. Online. *Environmental Science: Processes & Impacts*. 2017, roč. 19, s. 549–560. Dostupné z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/em/c6em00564k/unauth>. [cit. 2024-03-01].
- [28] LIN, Huiju. *Per- and Polyfluoroalkyl Substances in the Air Particles of Asia: Levels, Seasonality, and Size-Dependent Distribution*. Online. *Environmental Science & Technology*. 2020, roč. 54, č. 22, s. 14182–14191. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.est.0c03387>. [cit. 2024-03-01].
- [29] ORATA, Francis a, et al. *Determination of Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctane Sulfonate in Lake Victoria Gulf Water*. Online. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2008, roč. 82, s. 218–222. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-008-9543-1>. [cit. 2024-03-01].
- [30] GROFFEN, Thimo a, et al. *Distribution of perfluorinated compounds (PFASs) in the aquatic environment of the industrially polluted Vaal River, South Africa*. Online. *Science of The Total Environment*. 2018, roč. 627, s. 1334–1344. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971830411X>. [cit. 2024-03-01].
- [31] ZHOU, Yunqiao a, et al. *Ecological effect and risk towards aquatic plants induced by perfluoroalkyl substances: Bridging natural to culturing flora*. Online. *Chemosphere*. 2017, roč. 167, s. 98–106. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516313583>. [cit. 2024-03-01].
- [32] MUSSABEK, Dauren a, et al. *Temporal trends and sediment–water partitioning of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in lake sediment*. Online. *Chemosphere*. 2019, roč. 227, s. 624–629. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653519307210>. [cit. 2024-03-01].
- [33] ALLINSON, Mayumi a, et al. *Occurrence of perfluoroalkyl substances in selected Victorian rivers and estuaries: An historical snapshot*. Online. *Heliyon*. 2019, roč. 5, č. 9. Dostupné z: [https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440\(19\)36132-8.pdf](https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440(19)36132-8.pdf). [cit. 2024-03-01].
- [34] MOURIER, B. a, et al. *Combined spatial and retrospective analysis of fluoroalkyl chemicals in fluvial sediments reveal changes in levels and patterns over the last 40 years*. Online. *Environmental Pollution*. 2019, roč. 253, s. 1117–1125. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749119328544>. [cit. 2024-03-09].
- [35] SCHMIDT, Natascha a, et al. *Occurrence of perfluoroalkyl substances in the Bay of Marseille (NW Mediterranean Sea) and the Rhône River*. Online. *Marine Pollution Bulletin*.

2019, roč. 149, s. 110491. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X19306290>. [cit. 2024-03-01].

[36] BRUMOVSKÝ, Miroslav a, et al. Per- and polyfluoroalkyl substances in the Western Mediterranean Sea waters. Online. *Chemosphere*. 2016, roč. 159, s. 308-316. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516307664>. [cit. 2024-03-01].

[37] ALI, Aasim M. a, et al. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in contaminated coastal marine waters of the Saudi Arabian Red Sea: a baseline study. Online. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020, roč. 28, s. 2791–2803. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-020-09897-5>. [cit. 2024-03-01].

[38] ZHANG, Xianming; LOHMANN, Rainer a SUNDERLAND, Elsie M. Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Seawater and Plankton from the Northwestern Atlantic Margin. Online. *Environmental Science & Technology*. 2019, roč. 53, č. 21, s. 12348–12356. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.est.9b03230>. [cit. 2024-03-01].

[39] CATHERINE, Munschy; NADÈGE, Bely; CHARLES, Pollono a YANN, Aminot. Perfluoroalkyl substances (PFASs) in the marine environment: Spatial distribution and temporal profile shifts in shellfish from French coasts. Online. *Chemosphere*. 2019, roč. 228, s. 640-648. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653519308689>. [cit. 2024-03-01].

[40] ZAFEIRAKI, Effrosyni a, et al. Occurrence and tissue distribution of perfluoroalkyl substances (PFASs) in sharks and rays from the eastern Mediterranean Sea. Online. *Environmental Pollution*. 2019, roč. 252, Part A, s. 379-387. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749119307675>. [cit. 2024-03-01].

[41] STRYNAR, Mark J. a, et al. Pilot scale application of a method for the analysis of perfluorinated compounds in surface soils. Online. *Chemosphere*. 2012, roč. 86, č. 3, s. 252-257. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653511010800>. [cit. 2024-03-01].

[42] LIU, Zhaoyang a, et al. Multiple crop bioaccumulation and human exposure of perfluoroalkyl substances around a mega fluorochemical industrial park, China: Implication for planting optimization and food safety. Online. *Environment International*. 2019, roč. 127, s. 671-684. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412018332069>. [cit. 2024-03-01].

[43] RANKIN, Keegan a, et al. A North American and global survey of perfluoroalkyl substances in surface soils: Distribution patterns and mode of occurrence. Online. *Chemosphere*. 2016, roč. 161, s. 333-341. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516308803>. [cit. 2024-03-01].

[44] CHEN, Hao a, et al. Multimedia Distribution and Transfer of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) Surrounding Two Fluorochemical Manufacturing Facilities in Fuxin, China. Online. *Environmental Science & Technology*. 2018, roč. 52, č. 15, s. 8263–8271. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.est.8b00544>. [cit. 2024-03-01].

[45] HOUTZ, Erika F. a, et al. Persistence of Perfluoroalkyl Acid Precursors in AFFF-Impacted Groundwater and Soil. Online. *Environmental Science & Technology*. 2013, roč. 47, č. 15, s. 8187–8195. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es4018877>. [cit. 2024-03-01].

- [46] CHOI, Geun-Hyoung a, et al. *Environmental and dietary exposure of perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonic acid in the Nakdong River, Korea*. Online. *Environmental Geochemistry and Health*. 2020, roč. 43, s. 347–360. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10653-020-00721-0>. [cit. 2024-03-01].
- [47] LENKA, Swadhina Priyadarshini Lenka; KAH, Melanie a PADHYE, Lokesh P. *A review of the occurrence, transformation, and removal of poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) in wastewater treatment plants*. Online. *Water Research*. 2021, roč. 199, s. 117187. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135421003857?casa_token=KwU3XD1Iqx0AAAAA:b9eGkpuDO6dbeNkkUgpNs9OujqaJO8tIMuT-H5neOyVaei4cLJAxbqFKJAKsteYg7MSKM1up. [cit. 2024-03-09].
- [48] WASHINGTON, John W. a, et al. *Concentrations, Distribution, and Persistence of Perfluoroalkylates in Sludge-Applied Soils near Decatur, Alabama, USA*. Online. *Environmental Science & Technology*. 2010, roč. 44, č. 22, s. 8390–8396. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es1003846>. [cit. 2024-03-09].
- [49] SEMERÁD, Jaroslav a, et al. *Screening for 32 per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) including GenX in sludges from 43 WWTPs located in the Czech Republic - Evaluation of potential accumulation in vegetables after application of biosolids*. Online. *Chemosphere*. 2020, roč. 261, s. 128018. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565352032213X>. [cit. 2024-03-01].
- [50] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2022/2388: kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity perfluoralkylovaných látek v některých potravinách. Online. In: . *Úřední věstník Evropské unie*, 2022. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022R2388>. [cit. 2024-02-29].
- [51] PFAS VE VODÁCH - ROZSAH ANALÝZ A SOUČASNÝ STAV LEGISLATIVY. Online. In: *ALS Czech Republic*. B.r. Dostupné z: https://www.alsglobal.cz/enviromails/enviromail_01. [cit. 2024-02-24].
- [52] POLICY BRIEFING: Toxic tide rising: time to tackle PFAS: National approaches to address PFAS in drinking water across Europe. Online. In: *European Environmental Bureau*. 2023. Dostupné z: <https://eeb.org/wp-content/uploads/2023/10/PFAS-in-drinking-water-briefing-final-1.pdf>. [cit. 2024-02-24].
- [53] Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS): Final PFAS National Primary Drinking Water Regulation. Online. In: *U.S. Environmental Protection Agency*. 2024. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sdwa/and-polyfluoroalkyl-substances-pfas>. [cit. 2024-02-24].
- [54] PFAS National Primary Drinking Water Regulation Rulemaking. Online. 2023, roč. 88, č. 60, s. 18638–18754. Dostupné z: <https://www.federalregister.gov/documents/2023/03/29/2023-05471/pfas-national-primary-drinking-water-regulation-rulemaking>. [cit. 2024-02-29].
- [55] Determination of Perfluoroalkyl Substances (PFAS) in Sediments by QuEChERS and LC-MS/MS (TN-0117). Online. In: *Phenomenex*. © 2024. Dostupné z: <https://www.phenomenex.com/documents/2020/12/09/2012/determination-of-perfluoroalkyl-substances-pfas-in-sediments-by-quechers-and-lcmsms-tn0117>. [cit. 2024-02-29].

- [56] Fast and Economical PFAS Extraction Using Strata PFAS. *Online. In: Phenomenex. 2024. Dostupné z: <https://phenomenex.blog/2022/09/06/fast-and-economical-pfas-extraction-using-strata-pfas/?pdf=13289>. [cit. 2024-02-29].*
- [57] Method for the Determination of Concentrations of Perfluoroalkyl Substances (PFAS) in Drinking Water. *Online. In: Drinking Water Inspectorate. 2022. Dostupné z: <https://dwi-content.s3.eu-west-2.amazonaws.com/wp-content/uploads/2022/09/27104332/DWI70-2-334.pdf>. [cit. 2024-03-01].*
- [58] METHOD 533: DETERMINATION OF PER- AND POLYFLUOROALKYL SUBSTANCES IN DRINKING WATER BY ISOTOPE DILUTION ANION EXCHANGE SOLID PHASE EXTRACTION AND LIQUID CHROMATOGRAPHY/TANDEM MASS SPECTROMETRY. *Online. In: U.S. Environmental Protection Agency. 2019. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-12/documents/method-533-815b19020.pdf>. [cit. 2024-03-01].*
- [59] Overcoming the limitations of current analytical methods. *Online. In: Haley & Aldrich. 2020. Dostupné z: <https://www.haleyaldrich.com/wp-content/uploads/2020/09/PFAS-TechnicalUpdate-AnalyticalMethods.pdf>. [cit. 2024-05-16].*
- [60] Exploring the Relationship: Is PTFE a PFAS? Decoding the Controversy and Comparing PFAS vs PTFE. *Online. In: LinkedIn. 2024. Dostupné z: <https://www.linkedin.com/pulse/exploring-relationship-ptfe-pfas-decoding-controversy-p6afc>. [cit. 2024-05-18].*
- [61] The Teflon chemical PTFE is often touted as a safe cousin of toxic PFAS. But is it really? *Online. In: ChemSec. 2020. Dostupné z: <https://chemsec.org/the-teflon-chemical-ptfe-is-often-touted-as-a-safe-cousin-of-toxic-pfas-but-is-it-really/>. [cit. 2024-05-18].*
- [62] PFAS Analysis – Why a Delay Column is Important. *Online. In: Restek. @2024. Dostupné z: <https://www.restek.com/global/en/videos/pfas-analysis-why-a-delay-column-is-important>. [cit. 2024-05-18].*
- [63] *High-performance liquid chromatography*. *Online. In: Wikipedia: the free encyclopedia. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-, 2024-05-13. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/High-performance_liquid_chromatography. [cit. 2024-05-18].*
- [64] HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie). *Online. In: ZSHK. B.r. Dostupné z: <https://labmet.zshk.cz/vyuka/hplc.aspx>. [cit. 2024-05-18].*
- [65] *Vysokoúčinná kapalinová chromatografie*. *Online. In: DASTA. B.r. Dostupné z: <https://dastacr.cz/DS3/hypertext/AJALB.htm>. [cit. 2024-03-09].*
- [66] SCHUG, Kevin A.; DASGUPTA, Purnendu K. a CHRISTIAN, Gary D. *Analytical Chemistry*. *Online. 7th Edition. Wiley, 2013. ISBN 978-0-470-88757-8. Dostupné z: <https://tech.chemistrydocs.com/Books/Analytical/Analytical-Chemistry-by-Gary-D-Christian.pdf>. [cit. 2024-03-09].*
- [67] The Different Types of HPLC Columns Explained. *Online. In: LC Services Ltd. 2021. Dostupné z: <https://www.lcservicesltd.co.uk/the-different-types-of-hplc-columns-explained/>. [cit. 2024-03-09].*

- [68] *Pore Size vs. Particle Size in HPLC Columns*. Online. In: Chrom Tech. 2024. Dostupné z: <https://chromtech.com/pore-size-vs-particle-size-in-hplc-columns/>. [cit. 2024-03-09]
- [69] BELL, David S. Perspectives on the Adoption and Utility of 1.0-mm Internal Diameter Liquid Chromatography Columns. Online. In: *Chromatography Online*. 2019. Dostupné z: <https://www.chromatographyonline.com/view/perspectives-adoption-and-utility-10-mm-internal-diameter-liquid-chromatography-columns-0>. [cit. 2024-03-09].
- [70] DESTEFANO, Joseph J. a, et al. Are Sub-2 μm Particles Best for Separating Small Molecules? An Alternative. Online. *Journal of chromatography. A*. 2015, roč. 1368, s. 163–172. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4254563/>. [cit. 2024-03-09].
- [71] A., Skoog Douglas a, et al. Analytická chemie. Online. 1. vydání. VŠCHT, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0. Dostupné z: https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-978-80-7592-043-0&fbclid=IwAR0i2ADm3kFF3w6TFR6jVw6FJHPhXzgVIH3aagYU3J7iLgyLDLToc004kJA. [cit. 2024-05-18].
- [72] FRIEDECKÝ, D. a LEMR, K. Úvod do hmotnostní spektrometrie. Online. *Klin. Biochem. Metab.* 2012, roč. 20, č. 41, s. 152–157. Dostupné z: <https://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2012/2012-3/KBM12-3-Friedecky-152.pdf>. [cit. 2024-02-24].
- [73] BANERJEE, Shibdas a MAZUMDAR, Shyamalava. Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. Online. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2012, roč. 2012. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/ijac/2012/282574/>. [cit. 2024-04-06].
- [74] VAN BRAMER, Scott. An Introduction to Mass Spectrometry: Vacuum System. Online. In: *Chemistry LibreTexts*. 2024. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/An_Introduction_to_Mass_Spectrometry_\(Van_Bramer\)/05%3A_MASS_SPECTROMETER_SYSTEMS/5.01%3A_Vacuum_System](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/An_Introduction_to_Mass_Spectrometry_(Van_Bramer)/05%3A_MASS_SPECTROMETER_SYSTEMS/5.01%3A_Vacuum_System). [cit. 2024-05-18].
- [75] MCMAHON, Greg. Mass Spectrometry Ionization. Online. In: *Technology Networks*. 2021. Dostupné z: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/mass-spectrometry-ionization-347995>. [cit. 2024-05-18].
- [76] HO, CS. a, et al. Electrospray Ionisation Mass Spectrometry: Principles and Clinical Applications. Online. *Clin Biochem Rev.* 2003, roč. 24, č. 1, s. 3–12. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1853331/>. [cit. 2024-05-18]
- [77] *Electrospray Ionization*. Online. In: *Creative Proteomics*. © 2024. Dostupné z: <https://www.creative-proteomics.com/support/electrospray-ionization.htm>. [cit. 2024-02-24].
- [78] SOLEILHAC, Antonin a, et al. Correlating droplet size with temperature changes in electrospray source by optical methods. Online. *Analytical Chemistry*. 2015, roč. 87, č. 16, s. 8210–8217. Dostupné z: <https://hal.science/hal-01344760/document>. [cit. 2024-02-24].
- [79] KEBARLE, Paul a VERKERK, Udo H. Online. In: *Reactive Intermediates: MS Investigations in Solution*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2009, s. 1–35. ISBN

9783527628728.

Dostupné

z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/9783527628728.ch1>. [cit. 2024-04-06].

[80] DE HOFFMANN, Edmond a STROOBANT, Vincent. Mass Spectrometry Principles and Applications. Online. Third Edition. Wiley, 2007. ISBN 978-0-470-03310-4. Dostupné z: <https://www.usp.br/massa/2014/qfl2144/pdf/MassSpectrometry.pdf>. [cit. 2024-05-18].

[81] GROSS, Jürgen H. Mass Spectrometry. Online. Third Edition. Springer, 2017. ISBN 978-3-319-54398-7. Dostupné z: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5816848/mod_resource/content/0/2017_Book_MassSpectrometry.pdf. [cit. 2024-02-29].

[82] JOHNSON, Andrew R a CARLSON, Erin E. Collision-Induced Dissociation Mass Spectrometry: A Powerful Tool for Natural Product Structure Elucidation. Online. Analytical Chemistry. 2015, roč. 46, č. 50, s. 10668-78. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/279731778_Collision-Induced_Dissociation_Mass_Spectrometry_A_Powerful_Tool_for_Natural_Product_Structure_Elucidation. [cit. 2024-05-18].

[83] Triple quadrupole mass spectrometer. Online. In: Wikipedia: the free encyclopedia. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-, aktualizováno 15.5.2024. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Triple_quadrupole_mass_spectrometer. [cit. 2024-05-18].

[84] Triple Quad vs Single Quad Mass Spectrometry – What's the Difference? Online. In: SCION Instruments. ©2024. Dostupné z: <https://scioninstruments.com/blog/triple-quad-vs-single-quad-mass-spectrometry-whats-the-difference/>. [cit. 2024-02-24].

[85] KAILASAM, Srividya. LC-MS – What Is LC-MS, LC-MS Analysis and LC-MS/MS. Online. In: Technology Networks. 2021. Dostupné z: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/lc-ms-what-is-lc-ms-lc-ms-analysis-and-lc-msms-348238>. [cit. 2024-05-18].

[86] MCMAHON, Greg. Types of Ion Detector for Mass Spectrometry. Online. In: Technology Networks. 2021. Dostupné z: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/types-of-ion-detector-for-mass-spectrometry-347890>. [cit. 2024-05-18].

[87] GONG, Xiuxian a, et al. Perfluoroalkyl acids in Daliao River system of northeast China: determination, distribution and ecological risk. Online. Environmental Earth Sciences. 2016, roč. 75, s. 469. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12665-016-5345-7#Sec2>. [cit. 2024-04-23].

[88] HUNT, Kathy a HINDLE, Ralph. Extraction of Per/Polyfluoroalkyl Substances in Water Using Agilent Offline Solid Phase Extraction. Online. In: Agilent. 2018. Dostupné z: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-infinity-lc-6470-triple-quadrupole-jet-stream-esi-5994-0250en-agilent.pdf>. [cit. 2024-04-23].

[89] HUNT, Kathy a HINDLE, Ralph. Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous Samples Per EPA Method 1633. Online. In: Agilent. 2024. Dostupné z: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/an-pfas-wastewater-bond-elut-pfas-wax-1290-infinity-lc-5994-5226en-agilent.pdf>. [cit. 2024-04-23].

- [90] HUSET, Carin A. a BARRY, Kitrina M. Quantitative determination of perfluoroalkyl substances (PFAS) in soil, water, and home garden produce. Online. MethodsX. 2018, roč. 5, s. 697–704. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6039355/>. [cit. 2024-05-15].
- [91] KENNEDY, David a AL, et. PFAS Analysis Based Upon a pH-Variable LC Mobile Phase Gradient. Online. In: Phenomenex. 2020. Dostupné z: <https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/96f363ac-ab3a-4f8f-a3d0-7ca83e035105.pdf>. [cit. 2024-05-08].
- [92] ALAM, Nazmul. PH Power: How Mobile Phase Modifiers Can Optimize Your HPLC Separation. Online. In: LinkedIn. 2023. Dostupné z: <https://www.linkedin.com/pulse/ph-power-how-mobile-phase-modifiers-can-optimize-your-alam-ph-d->. [cit. 2024-05-15].
- [93] DOLAN, John W. Back to Basics: The Role of pH in Retention and Selectivity. Online. In: Chromatography Online. 2017. Dostupné z: <https://www.chromatographyonline.com/view/back-basics-role-ph-retention-and-selectivity>. [cit. 2024-05-15].
- [94] ZWEIGENBAUM, Jerry a ZHAO, Hui. Simplified and Fast Analysis of Perand Polyfluoroalkyl Substances in Non-potable Waters. Online. In: Agilent. 2019. Dostupné z: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-per-polyfluoroalkyl-non-potable-water-5994-0678en-agilent.pdf>. [cit. 2024-05-15].
- [95] SANAN, Toby a MAGNUSON, Matthew. Analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in sub-sampled water matrices with online solid phase extraction/isotope dilution tandem mass spectrometry. Online. Journal of Chromatography A. 2020, roč. 1626, s. 461324. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967320306026?casa_token=gz0OJxRZqRUAAAAA:_X8HWTZyHjwmku1s4GRF-EV0G3zPmYNE3V3vR5wTy0VSM0he-uNQmSQWYRuJxhRGFGhKBcvTg. [cit. 2024-05-15].
- [96] Robust, High-Recovery Solid Phase Extraction (SPE) of PFAS in Soils and Solids. Online. In: Agilent. © 2024. Dostupné z: <https://www.agilent.com/en/solutions/environmental/soil-sediment-solid-waste-testing/pfas-soil-testing/solid-phase-extraction-methods>. [cit. 2024-05-15].
- [97] WANG, X.F. a, et al. Determination of 23 perfluorinated alkylated substances in water and suspended particles by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Online. Journal of Environmental Science and Health, Part A. 2018, roč. 53, č. 14, s. 1277-1283. Dostupné z: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10934529.2018.1528042?casa_token=AgKtFo2GHRIAAAAA%3ArV3ZvYuXwFQtBNbReCFSTsyfCk0qP0zdGwOreZ1vWvEpbNeqHWijP7fxds_nmB1OOLqVi_d5T9bg. [cit. 2024-05-08].
- [98] OLOMUKORO, Aghogho A. a, et al. Ion exchange solid phase microextraction coupled to liquid chromatography/laminar flow tandem mass spectrometry for the determination of perfluoroalkyl substances in water samples. Online. Journal of Chromatography A. 2021, roč. 1651, s. 462335. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967321004593?casa_token=Nbzk5rAxSIAAAAAA:N3-

U2lirdYmZouFAqCXL_dAGt99psAId1P7fLPQIfbk2KOmlf6u8LXeBxsnDxKhJX5liWyn3Gw#sec0010. [cit. 2024-05-08].

[99] ROSENBLUM, Laura. METHOD 533: DETERMINATION OF PER- AND POLYFLUOROALKYL SUBSTANCES IN DRINKING WATER BY ISOTOPE DILUTION ANION EXCHANGE SOLID PHASE EXTRACTION AND LIQUID CHROMATOGRAPHY/TANDEM MASS SPECTROMETRY. Online. In: U.S. Environmental Protection Agency. 2019. Dostupné z: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-12/documents/method-533-815b19020.pdf>. [cit. 2024-03-01].

[100] SHOEMAKER, J. a TETTENHORST, Dan. Method 537.1 Determination of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Online. In: U.S. Environmental Protection Agency. 2020. Dostupné z: https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=348508&Lab=CESER&impleSearch=0&showCriteria=2&searchAll=537.1&TIMSType=&dateBeginPublishedPresented=03%2F24%2F2018. [cit. 2024-02-29].

[101] CHOW, Steven J. a, et al. Detection of ultrashort-chain and other per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in U.S. bottled water. Online. Water Research. 2021, roč. 201, s. 117292. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135421004905?casa_token=0Z9mPGIN-RkAAAAA:iSq3w0iooCwYbpL2GfhGnJI_p_P4dyDUYvepfLkPpcCorLX7KJ1kQ4ldQhsE9GbM0eavbiDw#sec0002. [cit. 2024-05-15].

[102] GONZÁLEZ-BARREIRO, Carmen. Method optimization for determination of selected perfluorinated alkylated substances in water samples. Online. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2006, roč. 356, s. 2123–2132. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-006-0902-7#Sec2>. [cit. 2024-05-15].

[103] JIAO, Enmiao a, et al. A pilot study on extractable organofluorine and per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in water from drinking water treatment plants around Taihu Lake, China: what is missed by target PFAS analysis? Online. Environ. Sci.: Processes Impacts. Roč. 24, s. 1060-1070. Dostupné z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2022/em/d2em00073c>. [cit. 2024-05-15].

[104] BRUMOVSKÝ, Miroslav a, et al. Retention performance of three widely used SPE sorbents for the extraction of perfluoroalkyl substances from seawater. Online. Chemosphere. 2018, roč. 193, s. 259-269. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653517317514?casa_token=fq2vZzZWJ0AAAAA:v9srx-PcXIUuo1BsN5N6lgkViY4_kjhTxxqz68cqqMplAwwpEe5340j3wur2xHOX2A_mvl4rMw. [cit. 2024-05-15].

[105] COGGAN, Timothy L. a, et al. A single analytical method for the determination of 53 legacy and emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in aqueous matrices. Online. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2019, roč. 411, s. 3507–3520. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-019-01829-8>. [cit. 2024-05-15].

[106] *Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS): Monitoring, Sampling, and Analysis*. Online. In: American Water Works Association. 2019. Dostupné z: <https://www.awwa.org/LinkClick.aspx?fileticket=X3NIIs3-j1sc%3D&portalid=0>. [cit. 2024-05-17].

[107] SANAN, Toby a MAGNUSON, Matthew. *Analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in sub-sampled water matrices with online solid phase extraction/isotope dilution tandem mass spectrometry*. Online. *Journal of Chromatography A*. 2020, roč. 1626, s. 461324. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967320306026?casa_token=NH88cMbwGZAAAAAA:0M8coH7F_xlTchxqs0TUA6108Xqh7NCdwn4S6TWp6bcJFRnQyMQUhfBVIIeTPQNwxFNHepiQ. [cit. 2024-05-17].

[108] ZACS, D. a BARTKEVICS, V. *Trace determination of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in environmental samples (surface water, wastewater, biota, sediments, and sewage sludge) using liquid chromatography – Orbitrap mass spectrometry*. Online. *Journal of Chromatography A*. 2016, roč. 1473, s. 109-121. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967316314261?casa_token=M15kQNaSqCAAAAAA:nigQHDkl0jq5stfBPAHTtcC5VQ6eqhEYR5bmzPcCqx-xSo6ic0LSIFSoPoWqYK_r_8H714PM. [cit. 2024-05-17].

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1. – Výsledky výtěžností při použití různých SPE

Příloha 2. – Výsledky výtěžností při použití různých objemů

Příloha 3. – Výsledky výtěžností při použití různých rekonstitučních objemů

Příloha 4. – Výsledky výtěžností při elucích

Příloha 1. – Výsledky výtěžností při použití různých SPE

Tabulka 12: Výtěžnosti a odchylky při použití různých SPE

Název analytu	Výtěžnost [%]					
	HLB O	HLB CH	HLB SS	C18	MAX (A)	MAX (B)
L-PFBS	69 ± 5	76 ± 3	40 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
L-PFDS	58 ± 6	59 ± 3	59 ± 0	73 ± 8	2 ± 0	0 ± 1
L-PFDoS	35 ± 2	43 ± 4	37 ± 5	52 ± 2	3 ± 0	0 ± 1
L-PFH _p S	67 ± 6	74 ± 1	76 ± 1	77 ± 7	0 ± 0	0 ± 0
L-PFH _x S	67 ± 5	77 ± 1	74 ± 1	65 ± 8	0 ± 0	2 ± 2
L-PFNS	65 ± 6	68 ± 1	64 ± 13	71 ± 10	0 ± 0	0 ± 0
L-PFOS	67 ± 4	74 ± 1	79 ± 1	80 ± 4	0 ± 0	0 ± 0
L-PFPeS	66 ± 6	74 ± 3	62 ± 0	9 ± 4	0 ± 1	2 ± 2
L-PFTrDS	28 ± 2	31 ± 11	31 ± 4	38 ± 1	7 ± 2	2 ± 1
L-PFUdS	44 ± 5	55 ± 2	51 ± 1	64 ± 7	5 ± 1	0 ± 0
PFBA	3 ± 1	0 ± 0	1 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 1
PFDA	71 ± 8	68 ± 11	65 ± 4	74 ± 1	1 ± 0	1 ± 1
PFHpA	71 ± 6	63 ± 21	48 ± 2	23 ± 12	0 ± 1	0 ± 0
PFH _x A	72 ± 6	60 ± 27	24 ± 1	3 ± 1	0 ± 0	0 ± 0
PFNA	74 ± 5	72 ± 11	69 ± 4	77 ± 1	2 ± 0	2 ± 2
PFOA	68 ± 7	66 ± 16	62 ± 6	67 ± 0	0 ± 0	0 ± 1
PFPeA	36 ± 1	22 ± 16	3 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 2
PFTrDA	45 ± 4	53 ± 6	47 ± 1	64 ± 7	9 ± 3	4 ± 4
PFUdA	66 ± 9	63 ± 11	61 ± 4	74 ± 7	2 ± 1	2 ± 2
PFdOA	58 ± 7	63 ± 8	61 ± 1	79 ± 11	6 ± 2	4 ± 4

Příloha 2. – Výsledky výtěžností při použití různých objemů

Tabulka 13: Výtěžky při různých nanášených objemech

Název analytu	Výtěžnost [%]		
	300 ml	400 ml	500 ml
L-PFBS	65 ± 2	69 ± 4	69 ± 0
L-PFDS	60 ± 8	67 ± 8	73 ± 1
L-PFDoS	43 ± 4	39 ± 3	53 ± 3
L-PFH_pS	70 ± 5	73 ± 6	70 ± 3
L-PFH_xS	64 ± 3	70 ± 2	70 ± 0
L-PFNS	65 ± 10	70 ± 6	70 ± 1
L-PFOS	67 ± 4	72 ± 8	72 ± 2
L-PFPeS	67 ± 5	71 ± 4	71 ± 0
L-PFTrDS	26 ± 2	27 ± 4	39 ± 4
L-PFUdS	44 ± 1	53 ± 5	60 ± 0
PFBA	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
PFDA	70 ± 10	72 ± 9	74 ± 2
PFH_pA	65 ± 7	65 ± 2	67 ± 3
PFH_xA	64 ± 8	62 ± 1	63 ± 4
PFNA	69 ± 8	69 ± 5	72 ± 3
PFOA	67 ± 7	71 ± 8	69 ± 4
PFPeA	27 ± 4	18 ± 2	16 ± 0
PFTrDA	50 ± 3	52 ± 1	61 ± 0
PFUdA	64 ± 9	68 ± 4	70 ± 0
PFdOA	60 ± 9	61 ± 7	72 ± 1

Příloha 3. – Výsledky výtěžností při použití různých rekonstitučních objemů

Tabulka 14: Výtěžnosti při různých rekonstitučních objemech

Název analytu	Výtěžnost [%]		
	300 μ l	400 μ l	500 μ l
L-PFBS	65 $\pm$ 3	68 $\pm$ 10	67 $\pm$ 1
L-PFDS	56 $\pm$ 2	62 $\pm$ 3	46 $\pm$ 6
L-PFDoS	47 $\pm$ 2	44 $\pm$ 3	28 $\pm$ 9
L-PFH_pS	72 $\pm$ 3	72 $\pm$ 11	70 $\pm$ 1
L-PFH_xS	72 $\pm$ 5	72 $\pm$ 11	74 $\pm$ 3
L-PFNS	64 $\pm$ 3	66 $\pm$ 4	51 $\pm$ 8
L-PFOS	72 $\pm$ 4	74 $\pm$ 6	64 $\pm$ 6
L-PFPeS	67 $\pm$ 5	68 $\pm$ 9	69 $\pm$ 2
L-PFTrDS	30 $\pm$ 1	34 $\pm$ 5	17 $\pm$ 11
L-PFUdS	50 $\pm$ 3	49 $\pm$ 3	34 $\pm$ 6
PFBA	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
PFDA	67 $\pm$ 2	63 $\pm$ 5	54 $\pm$ 2
PFH_pA	60 $\pm$ 6	56 $\pm$ 2	60 $\pm$ 12
PFH_xA	54 $\pm$ 9	51 $\pm$ 2	56 $\pm$ 15
PFNA	71 $\pm$ 4	67 $\pm$ 4	66 $\pm$ 4
PFOA	67 $\pm$ 5	63 $\pm$ 4	66 $\pm$ 7
PFPeA	15 $\pm$ 3	15 $\pm$ 0	32 $\pm$ 23
PFTrDA	56 $\pm$ 2	52 $\pm$ 5	36 $\pm$ 7
PFUdA	66 $\pm$ 3	65 $\pm$ 3	50 $\pm$ 3
PFdOA	59 $\pm$ 3	59 $\pm$ 6	46 $\pm$ 0

Příloha 4. – Výsledky výtěžností při elucích

Tabulka 15: Výtěžnosti při elucích

Název analytu	Výtěžnost [%]	
	10 ml	20 ml
L-PFBS	65 ± 3	65 ± 4
L-PFDS	56 ± 2	56 ± 2
L-PFDoS	47 ± 2	47 ± 2
L-PFH_pS	72 ± 3	72 ± 3
L-PFH_xS	72 ± 5	72 ± 5
L-PFNS	64 ± 3	64 ± 3
L-PFOS	72 ± 4	72 ± 4
L-PFPeS	67 ± 5	67 ± 5
L-PFTrDS	30 ± 1	30 ± 1
L-PFUdS	50 ± 3	50 ± 3
PFBA	0 ± 0	0 ± 0
PFDA	67 ± 2	67 ± 2
PFH_pA	60 ± 6	60 ± 6
PFH_xA	54 ± 9	54 ± 9
PFNA	71 ± 4	71 ± 4
PFOA	67 ± 5	67 ± 5
PFPeA	15 ± 3	15 ± 3
PFTrDA	56 ± 2	56 ± 2
PFUdA	66 ± 3	66 ± 3
PFdOA	59 ± 3	59 ± 3