



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

**CHARAKTERIZACE KOVŮ V ATMOSFÉRICKÉM
AEROSOLU**

CHARACTERIZATION OF METALS IN ATMOSPHERIC AEROSOL

DIZERTAČNÍ PRÁCE

DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ing. Hana Cigánková

ŠKOLITEL

SUPERVISOR

doc. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání dizertační práce

Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí Akademický rok: 2021/22
Studentka: **Ing. Hana Cigánková**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
Studijní obor: Chemie životního prostředí
Vedoucí práce: **doc. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.**

Název dizertační práce:

Charakterizace kovů v atmosférickém aerosolu

Zadání dizertační práce:

- Rešerše zaměřená na inhalačně biodostupné sloučeniny aerosolu, se zaměřením na biodostupnost prvků.
- Rešerše zaměřená na metody stanovení oxidativního potenciálu částic aerosolu a prvků, které jsou na částicích navázané.
- Stanovení celkové koncentrace prvků v jemné a submikronové frakci městského aerosolu a určení potenciačních zdrojů prvků v aerosolu.
- Stanovení a porovnání biodostupné koncentrace prvků v jemné a submikronové frakci městského aerosolu pro tři rozdílné simulované plicní tekutiny.
- Optimalizace metody stanovení oxidativního potenciálu testem DTT na standardních roztocích prvků.
- Stanovení oxidativního potenciálu standardních roztoků potenciačně redox–aktivních prvků pro tři simulované plicní tekutiny.
- Stanovení a porovnání oxidativního potenciálu jemné a submikronové frakce městského aerosolu pro tři simulované plicní tekutiny.

Termín odevzdání dizertační práce: 19.11.2021:

Ing. Hana Cigánková
student(ka)

doc. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.9.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Předložená disertační práce se zabývá charakterizací prvků ve dvou velikostních frakcích městského aerosolu, který byl vzorkován ve všech ročních obdobích na venkovní terase Ústavu analytické chemie AV ČR v Brně v roce 2018. V teoretické části práce jsou shrnuty základní informace o analýze a zdravotních rizicích atmosférického aerosolu a na něm vázaných kovech. Dále jsou v práci popsány metody stanovení inhalační biodostupnosti částic aerosolu a metody používané pro stanovení oxidativního potenciálu. V první části práce je podrobně popsáno vzorkování a analýza částic městského aerosolu. Byla stanovena hmotnostní koncentrace obou velikostních frakcí částic aerosolu a celková koncentrace 21 prvků vázaných na částice. Pomocí obohacovacího faktoru a pozitivní maticové faktorizace byly vypočítány pravděpodobné zdroje analyzovaných prvků. Druhá část práce se zabývá stanovením oxidativního potenciálu aerosolu a biodostupné koncentrace analyzovaných prvků ve třech simulovaných plicních tekutinách (deionizovaná voda, simulovaná kapalina plicních sklípků a Gamblův roztok). Kromě stanovení oxidativního potenciálu reálných vzorků byly stanoveny i oxidativní potenciály jednotlivých prvků. Ze získaných výsledků byl vypočítán pravděpodobný příspěvek prvků ke změřenému oxidativnímu potenciálu.

ABSTRACT

The presented doctoral thesis deals with the characterization of elements in two size fractions of urban aerosol, which was sampled in all seasons on the terrace of the Institute of Analytical Chemistry of the CAS in Brno in 2018. The theoretical part of the thesis summarizes the basic information about the analysis and health risks of atmospheric aerosol and metals bound to aerosol. Furthermore, the work describes methods for determining the inhalation bioaccessibility of aerosol particles and methods used for the determination of oxidative potential. The first part of the thesis describes in detail the sampling and analysis of urban aerosol particles. The mass concentration of both aerosol size fractions and the total concentration of 21 elements were determined. The probable sources of the analysed elements were calculated using the enrichment factor and positive matrix factorization. The second part of the thesis deals with the determination of the oxidative potential of the aerosol and bioaccessible concentration of the analysed elements in three simulated lung fluids (deionized water, simulated alveoli fluid, Gamble solution). In addition to determining the oxidative potential of real samples, the oxidative potential of individual elements was also analysed. From the obtained results was calculated the probable contribution of the elements to the measured oxidative potential.

KLÍČOVÁ SLOVA

částice aerosolu, prvky, zdroje prvků, biodostupnost, simulované plicní tekutiny, oxidativní potenciál, dithiothreitol

KEYWORDS

particulate matter, elements, sources of elements, simulated lung fluids, oxidative potential, dithiothreitol

CIGÁNKOVÁ, Hana. *Charakterizace kovů v atmosférickém aerosolu*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/140778>. Disertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Jozef Krajčovič.

PROHLÁŠENÍ

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

DECLARATION

I declare that the doctoral thesis has been worked out by myself and that all the quotations from the used literary sources are accurate and complete. The content of the doctoral thesis is the property of the Faculty of Chemistry of Brno University of Technology and all commercial uses are allowed only if approved by both the supervisor and the dean of the Faculty of Chemistry, BUT.

.....
Ing. Hana Cigánková

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkoval všem, kteří svými návrhy či připomínkami přispěli k vypracování této disertační práce. Zejména děkuji vedoucím práce doc. Ing. Jozefu Krajčovičovi, Ph.D. a RNDr. Pavlu Mikuškovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady, velkou trpělivost, ochotu a pomoc při řešení práce i v průběhu celého doktorského studia. Za spolupráci a poskytnutí dílčích výsledků děkuji Mgr. Jitce Hegrové, Ph.D. z Centra dopravního výzkumu a RNDr. Petře Pokorné, Ph.D. z Ústavu chemický procesů AV ČR, v.v.i. V neposlední řadě děkuji své rodině za shovívavost a dlouhodobou podporu.

OBSAH

1 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	10
2 ÚVOD	11
3 TEORETICKÁ ČÁST	13
3.1 Atmosférický aerosol	13
3.1.1 Analýza aerosolu.....	15
3.1.1.1 Hmotnostní koncentrace.....	15
3.1.1.2 Chemické složení.....	16
3.1.2 Vliv aerosolu na zdraví.....	16
3.2 Prvky v ovzduší.....	18
3.2.1 Zdroje prvků v ovzduší.....	18
3.2.1.1 Přírodní zdroje.....	18
3.2.1.2 Antropogenní zdroje.....	19
3.3 Vliv kovů na lidské zdraví.....	20
3.3.1 Toxické účinky vybraných prvků.....	21
3.3.1.1 Olovo.....	21
3.3.1.2 Kadmium.....	22
3.3.1.3 Chrom.....	22
3.3.1.4 Zinek.....	23
3.3.1.5 Měď.....	23
3.3.1.6 Železo.....	23
3.3.1.7 Nikl.....	24
3.3.1.8 Kobalt.....	24
3.3.1.9 Vanad.....	25
3.3.1.10 Mangan.....	25
3.4 Inhalační biodostupnost PM.....	26
3.4.1 Testy inhalační biodostupnosti.....	27
3.4.1.1 Testy inhalační biodostupnosti in vivo.....	27
3.4.1.2 In vitro expozice kultivovaných buněk.....	27
3.4.1.3 Testy inhalační biodostupnosti in vitro.....	28
3.4.2 Simulované plicní tekutiny.....	29
3.4.2.1 Gambův roztok a jeho modifikace.....	29
3.4.2.2 Hatchův roztok.....	30
3.4.2.3 Umělá lysozomální tekutina.....	30
3.4.2.4 Simulovaná tekutina plicních sklípků.....	30
3.5 Oxidativní stres.....	30

3.5.1	Test Dithiothreitolom	32
3.5.2	Test tekutinou dýchacích cest	34
3.5.3	Test kyselinou askorbovou	34
3.5.4	Test Dichlorofluorescinem.....	34
3.5.5	Elektronová spinová rezonance	35
3.6	Stanovení prvků v aerosolu.....	35
3.7	Vybrané metody pro analýzu prvků v atmosférickém aerosolu.....	36
3.7.1	Atomová absorpční spektroskopie (AAS)	36
3.7.1.1	<i>Princip a instrumentace</i>	36
3.7.2	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem	38
3.7.2.1	<i>Princip a instrumentace</i>	38
3.7.3	UV-VIS spektroskopie.....	39
3.7.3.1	<i>Princip a instrumentace</i>	39
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	41
4.1	Materiál	41
4.1.1	Použité chemikálie	41
4.1.2	Použité přístroje	42
4.2	Metody	42
4.2.1	Vzorkování aerosolů	42
4.2.2	Hmotnostních koncentrace PM.....	42
4.2.3	Rozklad vzorků	43
4.2.4	Extrakce filtrů s SLF	44
4.2.5	Stanovení celkových koncentrací prvků na ICP-MS	46
4.2.5.1	<i>Nastavení přístroje pro analýzu všech vzorků</i>	47
4.2.6	Stanovení biodostupné frakce prvků.....	48
4.2.6.1	<i>Stanovení koncentrace rozpustné frakce prvků pomocí ICP-MS</i>	48
4.2.6.2	<i>Stanovení koncentrace rozpustné frakce prvků pomocí AAS</i>	49
4.2.7	Obohacovací faktor	51
4.2.8	Pozitivní maticová faktorizace (Positive Matrix Factorization, PMF)	52
4.2.9	Stanovení oxidativního potenciálu testem DTT	52
4.2.9.1	<i>Stanovení oxidativního potenciálu standardních roztoků prvků</i>	53
4.2.9.2	<i>Stanovení oxidativního potenciálu reálných vzorků</i>	54
4.2.10	Zhodnocení zdravotních rizik	55
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	56
5.1	Hmotnostní koncentrace prvků	56
5.2	Celkové koncentrace prvků.....	58
5.3	Zdroje prvků.....	61

5.3.1	Obohacovací faktor	62
5.3.2	Pozitivní maticová faktorizace.....	63
5.4	Biodostupnost prvků	66
5.4.1	Biodostupné koncentrace prvků po extrakci do SLF	67
5.4.2	Zhodnocení zdravotních rizik	70
5.5	Oxidativní potenciál	73
5.5.1	Oxidativní potenciál standardních roztoků prvků	73
5.5.2	Oxidativní potenciál reálných vzorků	76
	5.5.2.1 <i>Korelace prvků s oxidativním potenciálem</i>	81
	5.5.2.2 <i>Příspěvky rozpustných prvků k oxidativnímu potenciálu</i>	87
6	ZÁVĚR.....	89
7	SEZNAM ZKRATEK.....	91
8	SEZNAM OBRÁZKŮ	93
9	SEZNAM TABULEK	95
10	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	96

1 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cíle disertační práce lze shrnout do následujících bodů:

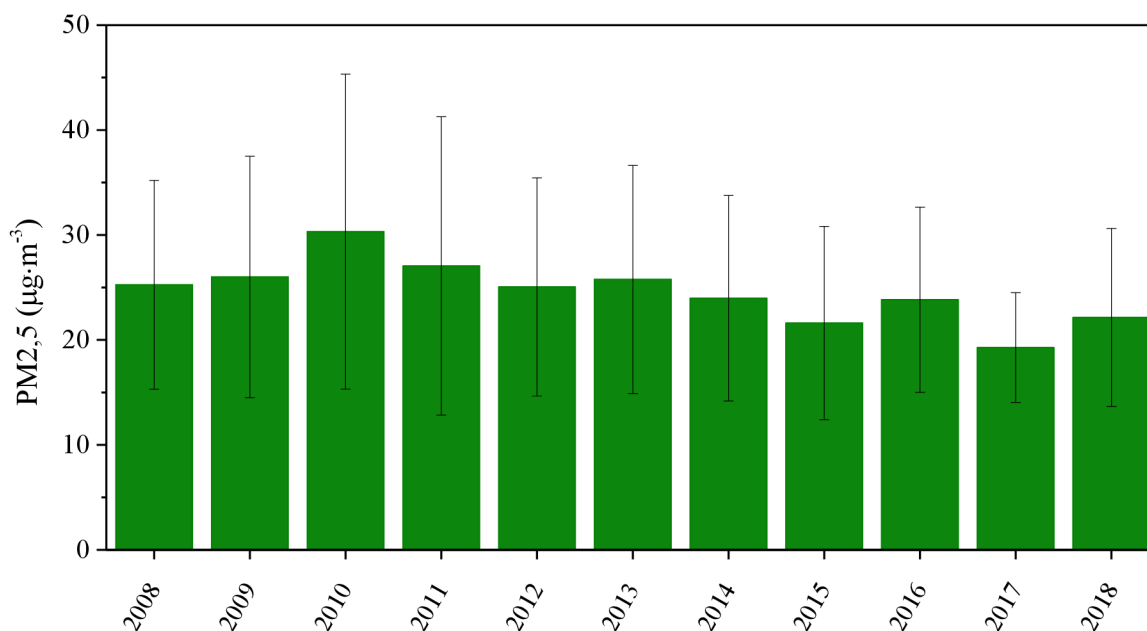
- Rešerše zaměřená na inhalačně biodostupné sloučeniny aerosolu, se zaměřením na biodostupnost prvků.
- Rešerše zaměřená na metody stanovení oxidativního potenciálu částic aerosolu a prvků, které jsou na částicích navázané.
- Stanovení celkové koncentrace prvků v jemné a submikronové frakci městského aerosolu a určení potencionálních zdrojů prvků v aerosolu.
- Stanovení a porovnání biodostupné koncentrace prvků v jemné a submikronové frakci městského aerosolu pro tři rozdílné simulované plicní tekutiny.
- Optimalizace metody stanovení oxidativního potenciálu testem DTT na standardních roztocích prvků.
- Stanovení oxidativního potenciálu standardních roztoků potencionálně redox-aktivních prvků pro tři simulované plicní tekutiny.
- Stanovení a porovnání oxidativního potenciálu jemné a submikronové frakce městského aerosolu pro tři simulované plicní tekutiny.

2 ÚVOD

Podle Organizace spojených národů (OSN) více než polovina světové populace v současné době žije v městských oblastech a studie naznačují, že tento trend bude narůstat. Očekává se, že v městských oblastech po celém světě bude do roku 2030 žít šest z deseti lidí a do roku 2050 to bude sedm z deseti [1].

Město Brno je druhým největším městem České republiky a největším městem Moravy. Je centrem školství, zdravotnictví, průmyslu a dopravy. Na území se nachází cca 1100 větších zdrojů znečišťování ovzduší a nespecifikované množství spalovacích zdrojů malých výkonů i ostatních zdrojů znečišťování. Město leží na důležité křižovatce tranzitních koridorů silniční i železniční dopravy a rozvíjí se zde i letecký provoz na mezinárodním letišti Brno-Tuřany [2]. Vliv jednotlivých zdrojů se v různých oblastech Brna liší v závislosti na způsobu vytápění nebo dopravní zátěži v dané lokalitě.

Zhoršená kvalita ovzduší má prokazatelně nepříznivé účinky na různé živočišné i rostlinné druhy nebo klimatický systém Země. Znečištění ovzduší ve městech, které je z velké části způsobeno vysokou koncentrací aerosolových částic, patří mezi hlavní globální výzvy v oblasti ochrany životního prostředí. Expozice částicím může být příčinou různých typů rakoviny, chronických onemocnění dýchacích cest, kardiovaskulární onemocnění, alergií a vrozených vad. Odhaduje se, že zvýšení znečištění ovzduší jemnými částicemi (PM_{2,5}; částice aerosolu s aerodynamickým průměrem menším než 2,5 μm) o 10 μg·m⁻³ představuje zvýšení úmrtnosti na kardiovaskulární a plicní onemocnění o 4–8 % [3]. Podle studie Evropské unie je expozice člověka jemné frakci aerosolu příčinou přibližně 350 000 předčasných úmrtí ročně a zkrácení průměrné délky života o jeden rok [4]. Změny průměrné celoroční hmotnostní koncentrace PM_{2,5} v Brně jsou vyobrazeny na Obr. 1.



Obr. 1: Vývoj průměrné celoroční hmotnostní koncentrace PM_{2,5} ze všech vzorkovacích stanic Českého hydrometeorologického ústavu (ČHMÚ) v Brně v průběhu 10 let (upraveno podle dat ČHMÚ).

Analýza složení městského aerosolu je rozhodující pro stanovení spektra znečišťujících látek, identifikaci jejich zdrojů, porozumění mechanismu transportu aerosolu i zhodnocení vlivu aerosolu na člověka. Tato měření však poskytují pouze všeobecný údaj o možné toxicitě. Pro hlubší porozumění škodlivosti aerosolů je, kromě výše zmíněných údajů, nezbytná identifikace potenciálně nebezpečných složek aerosolu a jejich depozice v plicích.

Prvky, jakožto jedna z významných složek aerosolu, jsou předmětem mnoha studií hlavně kvůli jejich potenciálnímu vlivu na lidské zdraví. Koncentrace prvků obsažených v částicích aerosolu jsou ve městech často výrazně vyšší než v pozadových oblastech. Tato skutečnost má za následek zvýšené zdravotní ohrožení městské populace. Studium prvků v aerosolu se často omezuje na stanovení koncentrace aerosolových částic o různých velikostech a stanovení celkových koncentrací prvků, což poskytuje pouze obecný údaj o možném negativním vlivu na zdraví člověka. Celkový obsah prvků v částicích aerosolu není dostatečným údajem pro přesné odhadnutí zdravotních rizik, jelikož zdravotní rizika spojená s vdechovanými částicemi jsou spojena nejen s jejich chemickým složením, ale také s rozpustností jednotlivých sloučenin v plicním surfaktantu. Pro identifikaci potenciální škodlivosti prvků vázaných na částicích aerosolu je v posledních letech věnována zvýšená pozornost studiím zaměřujících se právě na rozpustnost prvků v různých simulovaných plicních tekutinách (SLF).

Cílem předkládané disertační práce je přispět k hlubšímu porozumění role prvků v negativních účincích částic aerosolu na lidské zdraví. Vzhledem ke komplexnosti problematiky byl zvolen přístup změření celkových koncentrací prvků ve dvou velikostních frakcích aerosolu, identifikování jejich zdrojů, určení biodostupnosti prvků a stanovení oxidativního potenciálu aerosolových částic. Oxidativní potenciál slouží jako indikátor oxidativního stresu, který je v současné době považován za jeden z možných mechanismů toxického působení aerosolu. Tyto údaje byly měřeny pro jemnou (PM_{2,5}) a submikronovou (PM₁; částice aerosolu s aerodynamickým průměrem menším než 1 μm) frakci částic, které díky své velikosti představují větší riziko při vdechnutí než běžně měřené PM₁₀ (částice aerosolu s aerodynamickým průměrem menším než 10 μm). V rámci studie byly prováděny odběry aerosolů ve všech ročních obdobích, což umožňuje porovnání složení PM vyskytujícího se v průběhu roku a popsat variabilitu prvků obsažených v PM₁ a PM_{2,5} v teplé a chladné části roku v závislosti na odlišném emisním profilu zdrojů v těchto obdobích. Studie dále předkládá porovnání biodostupnosti prvků a oxidativního potenciálu aerosolu pro běžně používané simulované plicní tekutiny (deionizovaná voda a Gamblovův roztok) a nově navržené simulované tekutiny plicních sklípků, která by mohla sloužit jako dobrá alternativa pro již používané SLF.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Atmosférický aerosol

Atmosférický aerosol (*Particulate Matter*, PM) je definován jako směs pevných a kapalných částic suspendovaných ve vzduchu o velikosti v rozsahu 1 nm–100 μm . Lze ho popsat jako komplexní, vícefázový systém obsahující různorodou směs částic, kterou je možné charakterizovat průměrem (aerodynamický, optický, objemový aj.), chemickým složením, fyzikálními vlastnostmi, morfologií a koncentrací (početní nebo hmotnostní). Chemické vlastnosti aerosolu jsou předurčeny jeho zdrojem, mechanismem vzniku a dalšími podmínkami (meteorologické podmínky, vzdálenost od zdroje), které ovlivňují jeho vznik [5].

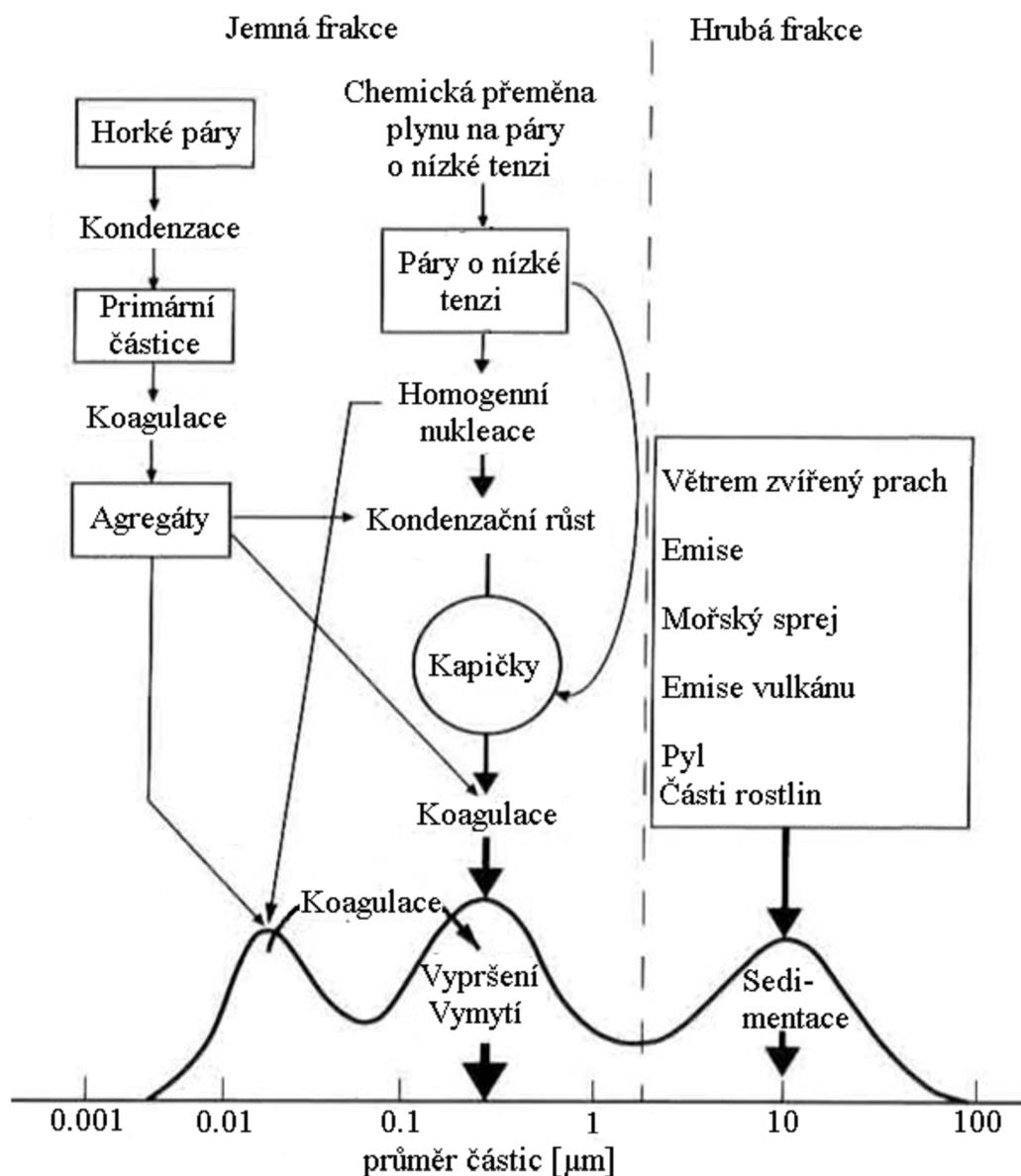
Aerosolové částice vznikají různými procesy z široké škály přírodních a antropogenních zdrojů [6][7]. Podle způsobu vzniku je lze rozdělit na primární, které vznikají přímou emisí do atmosféry ze zdrojů (např. doprava, průmysl), a sekundární, které vznikají v atmosféře v důsledku chemických reakcí plyných prekurzorů (např. atmosférický kyslík, vodní pára, amoniak, ozón, radikály, oxid siřičitý, oxidy dusíku atd.). Mezi sekundární částice lze řadit i PM, které vznikají reakcemi primárních částic s plyny nebo reakcemi primárních částic mezi sebou. Proces vzniku PM se skládá z nukleace částic plynu, kondenzace par organických sloučenin na již existujících částicích a koagulace částic [8].

Složení částic atmosférického aerosolu je rozmanité. Většinu hmotnosti PM tvoří anorganické ionty (např. chloridy, sulfáty, dusičnany, amonné ionty), prvky (ve formě solí a oxidů), saze („*elemental*“ a „*black carbon*“), organické sloučeniny (např. polycyklické aromatické uhlovodíky, sacharidy, alkany), biologické produkty (např. buněčné fragmenty, pyly, viry, bakterie), a voda [9]. Nejkomplikovanější chemické složení má městský aerosol, jelikož k jeho tvorbě, na rozdíl od pozadíového aerosolu, přispívá široká škála zdrojů [5].

Atmosférický aerosol je souborem značného počtu částic, které jsou většinou charakterizovány ekvivalentním aerodynamickým, optickým nebo Stokesovým průměrem. Velikost částic aerosolu ovlivňuje jak jejich životnost, tak fyzikální a chemické vlastnosti. V závislosti na velikosti částic můžeme rozlišit několik velikostních frakcí částic: 1) Celkové suspendované částice (TSP), které jsou sumou všech částic aerosolu bez velikostního rozlišení; 2) Hrubá frakce („*coarse*“) obsahuje aerosolové částice v rozsahu velikostí od 2,5 μm do 10 μm ; 3) Jemná frakce („*fine*“) obsahuje aerosolové částice s aerodynamickým průměrem <2,5 μm a lze jí dále dělit do tří skupin (akumulační, Aitkenův a nukleační mód); 4) Submikronová frakce obsahuje aerosolové částice s aerodynamickým průměrem <1 μm ; 5) Ultrajemná frakce (nanočástice) obsahuje částice s aerodynamickým průměrem menším než 100 nm. Jednotlivé frakce se od sebe liší způsobem vzniku, zdroji, chemickým složením a chováním ve vzduchu [6][10][5].

V minulosti byla dlouhodobě věnována pozornost hlavně módu hrubých částic, jelikož tyto částice mohou pronikat do dýchacího ústrojí člověka. Hrubé částice tvoří převážně částice vzniklé působením mechanických sil na hmotu např. větrná eroze nebo dopravní a stavební aktivita, emise při zpracování rud a uhlí. Primárními složkami hrubé frakce jsou ionty, prvky a částice biologického původu. U hrubé frakce je doba setrvání v atmosféře výsledkem rovnováhy mezi sedimentací a turbulentním promícháváním v přízemní vrstvě atmosféry.

Průměrná doba setrvání částic ve vzduchu se pohybuje řádově v rozmezí hodin až dvou dnů [5][6].



Obr. 2: Idealizované schéma distribuce částic atmosférického aerosolu. Zjednodušené reakční schéma, zdroje, formy a hlavní procesy vedoucí k odstranění jednotlivých velikostních skupin aerosolu z atmosféry [11].

V současné době je věnována zvýšená pozornost částicím jemné a submikronové frakce, které jsou emitovány primárně spalovacími procesy (v průmyslu, elektrárnách, domácnostech a automobilové dopravě). Obsahují především sírany, dusičnany, saze („elemental“ a „black carbon“), organické sloučeniny a některé stopové prvky (např. olovo, kadmium, nikl, měď, vanad, zinek, železo atd.) [6].

Koncentrace částic atmosférického aerosolu závisí také na meteorologických podmínkách (teplota, rychlost a směr větru, srážky, relativní vlhkost, výška mezní vrstvy atmosféry), které jsou vzájemně propojené. Směr a rychlost větru ovlivňují šíření a rozptyl PM v atmosféře

(čím větší rozptyl PM, tím je nižší jejich koncentrace v jednotlivých oblastech). Změny teploty vzduchu ovlivňují distribuci PM přímo (čím více se mění teplota vzduchu se zvětšující se výškou nad zemí, tím hůře se znečišťující látky vertikálně rozptylují) nebo nepřímo (vliv emisí uvolněných v topném období, při nižších teplotách se topí více, což zvyšuje množství emisí). Koncentrace PM v ovzduší může být dále ovlivněna srážkami (snižují koncentraci PM) a výškou mezní vrstvy [12]. Výška mezní vrstvy ovlivňuje směšování částic ve svislém směru. Snížení mezní vrstvy oslabí schopnost vertikální difúze znečišťujících látek, čímž se zvýší jejich koncentrace. Zvýšení výšky mezní vrstvy naopak posílí schopnost vertikální difúze látek, čímž se koncentrace znečišťujících látek sníží [13].

3.1.1 Analýza aerosolu

3.1.1.1 Hmotnostní koncentrace

Jednou ze základních charakterizací aerosolu je hmotnostní koncentrace, která je většinou stanovována v jednotkách $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Hmotnostní koncentrace PM je proměnlivá v závislosti na lokalitě odběru, době odběru a meteorologických podmínkách [14].

Pro měření hmotnostní koncentrace aerosolu je možné použít různé metody, které lze rozdělit do dvou základních skupin (gravimetrické a kontinuální metody). Gravimetrické metody, založené na odběrech částic na filtr, poskytují informaci o průměrné hmotnostní koncentraci aerosolu během doby vzorkování. Kontinuální metody umožňují získávání informací o hmotnostní koncentraci aerosolu v reálném čase (např. TEOM, RADIO). Metodou TEOM se měří hmotnostní koncentrace vzorku zachyceného na výměnný filtr v závislosti na změně frekvence oscilujícího kuželovitého nosiče. Metoda RADIO je založena na absorpci beta záření (^{14}C , ^{85}Kr) ve vzorku zachyceném na filtračním materiálu. Hmotnostní koncentrace je odvozena z rozdílu absorpce beta záření mezi exponovaným a neexponovaným filtračním materiálem, který je přímo úměrný hmotnosti zachyceného aerosolu [15].

S využitím gravimetrické metody jsou částice s určitou definovanou rychlostí nasávány čerpadlem přes filtr nebo fólii uchycené v držáku. Velikostní frakce, kterou chceme vzorkovat (nejčastěji PM₁₀, PM_{2,5} a PM₁), je vybírána pomocí odběrových hlavic, které odstraní větší částice, než je specifikovaná velikost [16][17]. Filtry použité pro záchyt částic lze rozdělit do dvou hlavních kategorií – vláknité a membránové. Vlákenné filtry jsou tvořeny vlákny vyrobenými převážně ze skla, křemene nebo celulózy. Membránové filtry obsahují malé póry o určité velikosti a jsou většinou tvořeny tenkými vrstvami polymerních materiálů. Nejčastěji jsou membránové filtry vyráběny z acetátu nebo nitrátu celulózy nebo z polytetrafluoroethylenu (teflon) [14]. Exponovaný filtr je před a po expozici zvážen. Na základě přírůstku hmotnosti a objemu prosátého vzduchu je stanovena hmotnostní koncentrace aerosolových částic. K zajištění konstantních podmínek při vážení se využívá místnost s konstantní teplotou a vlhkostí, kde jsou filtry před a po měření ekvilibrovány. Jako vzorkovací zařízení PM se nejčastěji používají kaskádové impaktory, středněobjemové a velkoobjemové vzorkovače. Po stanovení hmotnostní koncentrace jsou filtry podrobeny chemické analýze [18][19].

3.1.1.2 Chemické složení

Chemické složení aerosolu je většinou určováno pomocí dvou kroků. Prvním je navzorkování požadovaných PM na vhodný filtr a druhým je samotná chemická analýza částic. Analýza složení PM může být rozdělena na dvě základní skupiny – anorganické a organické složky.

Většina anorganických složek aerosolu v jemné i hrubé frakci je rozpustná ve vodě. Z toho důvodu je analýza anorganických složek aerosolu primárně zaměřena na stanovení koncentrace rozdílných iontů [14].

V atmosférickém aerosolu se nachází mnoho organických sloučenin vázaných na PM. Je možné je najít prakticky po celé planetě, a to i na místech vzdálených tisíce kilometrů od místa jejich vzniku [5]. Vzhledem k jejich velké rozmanitosti (alkany, alkeny, organické kyseliny, dusíkaté a kyslíkaté heterocyklické sloučeniny, polycyklické aromatické uhlovodíky, fenoly, karbonylové sloučeniny, alkoholy, alkylnitridy, hopany, sterany, anhydridy monosacharidů atd.) a nízkým koncentracím je jejich analýza složitá [5][14]. Mezi organické složky aerosolu lze řadit i materiál biologického původu (pyl, endotoxiny, houby a bakterie) [20].

Vzhledem ke komplexnímu složení aerosolu je pro jeho analýzu používáno několik metod. Podle analyzované složky PM je možné rozdělit tyto metody do tří hlavních skupin: prvková analýza (např. atomová absorpční spektrometrie, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem), analýza anorganických iontů (např. iontová chromatografie) a analýza organických sloučenin (např. plynová chromatografie) [14].

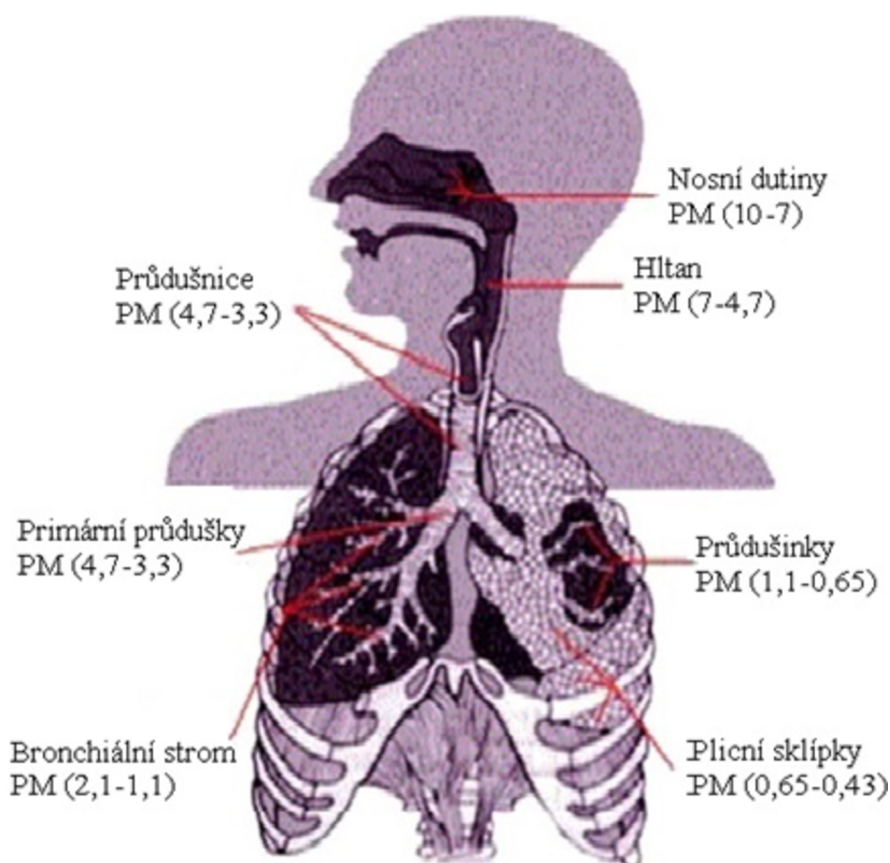
3.1.2 Vliv aerosolu na zdraví

Aerosolové částice o velikosti několika nm až 10 μm se do dýchacího ústrojí dostávají v rámci dýchání. Po vdechnutí aerosolu dochází buď k depozici částic v dýchacím ústrojí nebo mohou být částice opět vydechnuty. Výsledné místo depozice PM je ovlivněno jejich velikostí. Čím menší PM je, tím hlouběji do dýchacího systému proniká [9][21].

Při dýchání působí řasinky a hlen v horních dýchacích cestách jako velmi účinný filtr na zachycení většiny částic hrubé frakce. Tyto částice jsou z dýchacího systému mechanicky odstraněny (kýchání, kašláni nebo polykání), a tudíž se nemohou ukládat hlouběji v dýchacím systému. Z toho důvodu jsou za částice s největším vlivem na lidské zdraví považovány částice jemné, submikronové a ultrajemné frakce [22]. Částice jemné a submikronové frakce pronikají hlouběji do dýchacího ústrojí a mohou se usazovat až v průdušinkách nebo plicních sklípcích [9]. Ultrajemné částice, které se chovají podobně jako molekuly plynu, mohou dokonce přes plicní buňky proniknout do krevního řečiště, které umožní jejich distribuci do dalších orgánů, jako jsou játra, ledviny, srdce nebo mozek [9][23]. Ve srovnání s částicemi hrubé frakce mají částice jemné a ultrajemné frakce mnohem větší plochu povrchu, na kterou se mohou adsorbovat potencionálně toxické látky, které mohou být příčinou vzniku oxidativního stresu a respiračního onemocnění [24].

Expozice PM byla potvrzena jako příčina mnoha zdravotních problémů (astma, chronické respirační a kardiovaskulární choroby, snížená funkce plic, rakovina, diabetes) vedoucích až k předčasně úmrtnosti [25][26]. Podle odhadů Světové zdravotnické agentury expozice PM

způsobuje přibližně 16 % úmrtí na rakovinu plic, 11 % úmrtí na chronické obstrukční plicní onemocnění (zúžení dýchacích cest prostřednictvím trvalého zánětu) a 20 % ischemických chorob srdce a cévních mozkových příhod [21]. Na ochranu lidského zdraví byly stanoveny imisní limity expozice PM_{2,5} a PM₁₀. Imisní limity jsou pro PM₁₀ ve výši 50 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ za 24 hodin a za kalendářní rok 40 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, pro PM_{2,5} za kalendářní rok 20 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Povoleno počet jejich překročení za kalendářní rok určuje česká legislativa (Zákon č. 201/2012 Sb) [27].



Obr. 3: Místo deponice částic o různých velikostech do dýchací soustavy [9].

Kromě velikosti, koncentrace a složení PM je míra jejich škodlivého působení ovlivněna i dobou expozice. Krátkodobá expozice vysokým koncentracím PM se podílí na nárůstu onemocnění cév, srdce a zvýšení počtu hospitalizovaných osob pro onemocnění dýchacího ústrojí (např. zvýšení výskytu kašle, ztížené dýchání, změny plicních funkcí atd.). Dlouhodobá expozice vysokým koncentracím PM má za následek snížení plicních funkcí v důsledku onemocnění dýchacího ústrojí, chronický zánět průdušek, zkrácení délky života, rakovinu plic, kardiovaskulární onemocnění, nízké porodní hmotnosti kojenců nebo předčasné porody (případně úmrtí plodů a kojenců) [25][28]. Vystavení nižším koncentracím PM je spojeno s dýchavičností, nevolností, bolestmi na hrudi a kašlem [25].

3.2 Prvky v ovzduší

Škodlivé účinky aerosolu nezávisí pouze na zvyšující se hmotnostní koncentraci částic a různých velikostech částic, ale také na jejich chemickém složení. Jednou z potencionálně škodlivých složek aerosolových částic jsou prvky, které mohou mít významný dopad na lidské zdraví a životní prostředí. Přestože prvky přímo neovlivňují atmosférické procesy (formace mraků, viditelnost, změny klimatu), hrají důležitou roli v pochopení chemických reakcí v atmosféře [29][14]. Například Husain (1989) použil stopové prvky (Se, As a Sb) k rozlišení zdrojů SO_4^{2-} nalezeného v oblacích [30].

3.2.1 Zdroje prvků v ovzduší

Obsahy prvků v aerosolových částicích se mění s ohledem na velikostní distribuci aerosolu, roční období, meteorologické podmínky (teplota, relativní vlhkost, rychlost a směr větru), charakter posuzované lokality, emisní zdroje nebo dálkový transport. Koncentrace prvků pocházejících z antropogenní činnosti (např. vytápění domácností) narůstá v zimě a na jaře, zatímco koncentrace prvků pocházejících z přírodních zdrojů roste v létě a na podzim [31]. Odhad zdroje aerosolu lze provést na základě znalostí koncentrace jednotlivých prvků (popřípadě skupin prvků) v aerosolu [32]. Zdroj atmosférického aerosolu souvisí do jisté míry s velikostní frakcí, jelikož prvky s podobnou velikostní distribucí mají tendenci mít společné zdroje. V jemné frakci aerosolu se vyskytují převážně prvky a jejich sloučeniny, které vznikly z vysokoteplotních zdrojů. Hrubá frakce obsahuje hlavně prvky nebo jejich sloučeniny přírodního původu [5][33].

Atmosférický aerosol vznikající lidskou činností obsahuje velké množství rozdílných prvků. Vzhledem ke komplexnímu složení PM je téměř nemožné přesně určit zdroj emise pouze na základě koncentrace daného prvku v aerosolu, jelikož jeden prvek nemusí pocházet pouze z jednoho zdroje, ale může být spojen s několika rozdílnými zdroji [34]. Bylo však zjištěno, že poměry některých prvků se liší v závislosti na zdroji, což umožňuje charakterizovat některé ze zdrojů částic (např. spalování, průmysl) [14]. Například pro identifikaci dopravy jako zdroje znečištění se používají poměry Cu/Sb, Cu/Pb a Cu/Zn [35][36]. Poměr niklu a vanadu se používá jako indikátor spalování olejů a lodní dopravy [37]. Pro rozlišení emisí ze spalování uhlí a olejů se používá poměr Mn/V [35]. Přírodní zdroje prvků indikuje nálezy hliníku, křemíku, vápníku a titanu. Přítomnost kationtu draslíku v jemné frakci je spojována se spalováním biomasy [38].

3.2.1.1 Přírodní zdroje

Téměř všechny prvky přítomné v životním prostředí byly biogeochemicky cyklovány od vzniku Země. Lidská činnost zavedla další procesy, které zvýšily rychlost redistribuce prvků mezi složkami životního prostředí. Mezi přírodní zdroje prvků patří mořský aerosol, půdní eroze, sopečná činnost, emise z požárů, geologické procesy a různé biologické zdroje [33][39]. Vazba mezi chemií a mineralogií umožňuje charakterizovat geochemické podpisy pro různé typy hornin. Erozi hornin a následné působení počasí ovlivňuje množství prvku v blízkosti zdroje a množství prvku, které je v aerosolu přemístěno na větší vzdálenosti,

popřípadě rozpuštěno a transportováno v podzemních a povrchových vodách. Procesy, jako je únik plynů nebo kapalin podél prasklin zemské kůry a sopečná činnost, mohou lokálně vytvářet významné zdroje prvků. V důsledku těchto procesů je povrch Země geochemicky nehomogenní. Procesy v regionálním měřítku vedou k oblastem se zvýšenými nebo sníženými hladinami prvků v atmosféře. Pokud jsou biologicky dostupné, tak mohou působit na člověka [40].

Koncentrace stopových prvků v horninách je řízena množstvím běžných horninotvorných minerálů. Dostupnost substitučních míst v minerálních strukturách umožňuje zabudování stopových prvků. Nejčastějšími kovy atmosférického aerosolu pocházejícími z přírodních zdrojů jsou hliník, vápník, křemík, kobalt, hořčík, železo, mangan, sodík, stroncium, titan a draslík. Hliník a vápník jsou považovány za dominantní kovy zemské kůry [34][40].

3.2.1.2 Antropogenní zdroje

Antropogenními zdroji jsou především vysokoteplotní spalovací činnosti (průmyslové procesy, spalování fosilních paliv a odpadů, spalování biomasy, kouření cigaret atd.), doprava a těžební činnosti [41][42].

Dominantním antropogenním zdrojem prvků jsou spalovací procesy (spalování dřeva, uhlí, ropy), které mají za následek odpaření stopových prvků nebo jejich uvolňování ve formě aerosolu [43]. Spalovací procesy způsobené lidskou činností je možné rozdělit do dvou hlavních kategorií [14]. První je spalování biomasy a dřeva z domácích topenišť nebo lesních požárů. Během spalování biomasy dochází primárně k emisím draslíku, ale také manganu, sodíku, železa a vápníku [14][43]. Druhým je spalování fosilních paliv za účelem produkce energie nebo tepla. Tuto kategorii lze dále rozdělit na stálé a mobilní zdroje. Stálé zdroje zahrnují emise produkované elektrárnami, vytápěním domácností a různými průmyslovými procesy, zatímco mobilní zdroje zahrnují emise vzniklé přepravou lidí nebo různých materiálů [14].

Spalováním uhlí se do ovzduší uvolňuje arsen, kadmium, chrom, měď, železo, olovo, selen, stroncium, titan i vanad. Společně s kovy, arsenem a selenem se během spalování uhlí uvolňuje vysoký obsah síry. Bylo zjištěno, že přibližně 97 % arsenu je spojeno se spalováním uhlí, zbytek vzniká při spalování odpadu. Kovy jako vápník, kobalt, molybden, nikl, antimon, cín, vanad pochází ze spalování nafty nebo dalších spalovacích procesů [43][44][45]. Bylo zjištěno, že spalování ropy a uhlí představuje 85 % a 11 % veškeré antropogenní produkce vanadu. Z toho důvodu se vanad společně s niklem používá jako indikátor spalování těžkého oleje, převážně z mořských plavidel. Nikl kromě spalování uhlí pochází ze spalování ropy, tavení prvků a spalování odpadů. Zinek může být dále produkován spalováním rašeliny v elektrárnách, spalováním olejů, dopravou (např. otěr pneumatik) nebo může být společně s baryem emitován ze spaloven komunálního odpadu [46][47][48].

Hutní průmysl způsobuje emise aerosolu v blízkosti těžebních míst, vysokoteplotní zpracování rud emituje aerosoly bohaté na stopové prvky jako kadmium, měď, nikl, olovo, vanad nebo zinek. Podíl jednotlivých prvků v aerosolu závisí na typu zpracované rudy [43]. Průmyslové zdroje (železárně, ocelárny aj.) produkují aerosol tvořený převážně kadmiiem, bismutem, olovem, železem, zinkem, mědí, niklem, manganem, arsenem a stronciem [49].

Mezi jedny z hlavních emisních zdrojů prvků ve městech patří silniční doprava (obrus brzdových obložení, pneumatiky, obrus vozovky a výfukové emise částic), která emituje do aerosolu kadmium, měď, železo, nikl, olovo, zinek a antimon. Obrusem brzdových destiček vzniká převážně antimon a měď, případně kadmium, chrom, nikl nebo olovo. Opotřebením pneumatik je významným zdrojem zinku, dále mají pneumatiky sledovatelné množství několika dalších kovů jako kobalt, chrom, měď, rtuť, mangan, molybden, nikl nebo olovo. Kovy navázané na emitované výfukové částice pocházejí ze spalování fosilních paliv a procesů stárnutí motorů a katalyzátorů. Nejčastěji jsou z fosilních paliv emitovány kadmium, chrom, měď, nikl, vanad a olovo. Resuspencí větrem a turbulencí způsobenou pohybem aut jsou částice silničního prachu vnášeny zpět do atmosféry a znovu deponovány. Primárně s resuspencí silničního prachu bývá spojován křemík, železo, vápník, sodík, hořčík, hliník a draslík nacházející se v hrubé frakci aerosolových částic [43][50][51].

3.3 Vliv kovů na lidské zdraví

Mezi kovy se řadí zhruba osmdesát prvků periodické soustavy, přibližně třicet těchto prvků je označováno jako toxické, resp. těžké kovy, které zatěžují životní prostředí. Jako těžké kovy jsou označovány kovy se specifickou hmotností vyšší než $5 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ (např. olovo, kadmium, rtuť). Při určitých koncentracích působí škodlivě na člověka a ostatní složky ekosystému (měď, zinek, kadmium, rtuť, olovo, chrom, nikl, mangan a železo) [52][53].

Toxické kovy se vážou např. na funkční skupiny $-\text{SH}$, $-\text{COOH}$ a $-\text{NH}_2$, které jsou charakteristické pro aminokyseliny. Při navázání na biomolekulu aminokyseliny změní její strukturu a funkci, působí jako tzv. enzymatický jed. Příkladem je inaktivace antioxidačního enzymu glutathion peroxidázy, který působí při detoxikaci kovů z organismu [54]. Mohou katalyzovat reakci, při níž vznikají volné radikály, které následně způsobí oxidativní stres. Rovněž mohou být kompetitivní s esenciálními kovy a způsobit jejich následnou náhradu v tkáních (Pb nahradí Ca v kostech, Cd nahradí Zn v určitých enzymech) [55].

Protože kovy nejsou biologicky rozložitelné, zůstávají v tkáni po dlouhou dobu. Karcinogenní a genotoxické kovy indikují, že hlavním účinkem těchto kovů jako karcinogenních činidel je změna kapacity oprav DNA v důsledku oxidativního stresu. Kromě zničení řasinek usnadňují stagnaci hlenu, jehož produkce se v důsledku dráždivého účinku aerosolu zvyšuje. Při dlouhodobém kontaktu buněk s kovy roste příležitost interakce kovů s DNA a produkci genetických změn, které mohou vést k rakovině plic [56].

Riziko kardiovaskulárních onemocnění se zvyšuje při krátkodobé i dlouhodobé expozici kovům v aerosolových částicích [57][58]. Ultrajemné částice výfukových plynů jsou nebezpečné kvůli vysokému obsahu kovů, což způsobuje oxidativní stres, který vede k endotelové dysfunkci a rozvoji aterosklerózy zvyšující riziko srdečního infarktu nebo mrtvice [59].

Mnoho epidemiologických studií prokázalo souvislost mezi dlouhodobou expozicí částicím aerosolu, na kterých jsou navázané kovy, a úmrtností na rakovinu, zejména rakovinu plic. Kovy mohou podporovat karcinogenezi několika cestami (např. poškozování DNA nebo aktivací různých signálních cest, které vedou k progresi nádoru a podporují zánět) [60][61][62][63].

Jako genotoxický účinek kovů je označována jakákoliv kovy způsobená škodlivá změna v genetickém materiálu bez ohledu na mechanismus, kterým byla způsobena. Změny DNA lze klasifikovat podle rozsahu a závažnosti poškození. Opravitelné poškození zahrnuje jednovláknové zlomy a oxidované báze. Mezi poškození způsobené nesprávnými opravami patří chromozomální přestavby a výměna sesterských chromatid. Nenapravitelná poškození jsou způsobena získáním nebo ztrátou celých chromozomů nebo fragmentů chromozomů. Důsledky poškození DNA zahrnují změny v trojrozměrné konformaci, blokování procesů replikace, transkripce, delece, chromozomální nestability, buněčnou smrt a mutagenní příhody [64]. Bylo prokázáno, že nikl indukuje chromozomové aberace u potkanů [65], kadmium [66] a olovo [67] způsobují zlomení jednotlivých vláken, železo indukuje na myších chromozomové odchylky, v lidském organismu způsobuje vanad oxidaci bází [68].

Existuje velký rozdíl v toxicitě mezi organickými a anorganickými sloučeninami kovů, a to jak v kvalitě, tak v intenzitě toxického působení. Mezi nejtoxičtější látky patří organokovové sloučeniny, jelikož jsou lipofilní a snadno procházejí přes buněčné membrány [69].

3.3.1 Toxické účinky vybraných kovů

Každý kov má jedinečné funkce a fyzikálně-chemické vlastnosti, které způsobují jeho specifické toxikologické mechanismy působení. Těžké kovy mohou být příčinou různých zaživacích potíží, dermatitid, změn v krevním obraze, poškození orgánů (játra, ledviny, mozek) a rakovinotvorných procesů [70]. Mezi pravidelně monitorované prvky v České republice se řadí kadmium, nikl, olovo a arsen. Imisní limity za kalendářní rok se liší v závislosti na prvku. Pro kadmium je imisní limit $0,005 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, pro nikl $0,020 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, pro olovo $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a pro arsen $0,006 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ [71].

V dalším textu jsou popsány specifické škodlivé účinky pouze těch kovů, které jsou vzhledem k jejich schopnosti generovat reaktivní sloučeniny kyslíku používány ke studiu oxidativního potenciálu [72].

3.3.1.1 Olovo

Přestože se olovo přirozeně vyskytuje v přírodě (je například v malých množstvích přítomné v zemské kůře), antropogenní aktivity jako je spalování fosilních paliv, těžba a průmyslová výroba, přispívají k jeho uvolňování ve vysokých koncentracích [73].

Olovo přímo způsobuje vznik reaktivních sloučenin kyslíku (včetně singletového kyslíku, peroxidu vodíku a hydroperoxidu), které jsou schopné poškodit DNA [74]. Člověk je nejvíce vystaven olovu díky vdechování aerosolu a požitím vody nebo potravin kontaminovaných olovem. U dětí a těhotných žen dochází k větší absorpci olova, protože jejich tělo více podporuje absorpci vápníku a železa. Ionty olova jsou kompetitivní s ionty vápníku a železa, vážou se na $-\text{SH}$ skupinu esenciální aminokyselin. V období, kdy má tělo vápníku nedostatek, může akumulované olovo z kostí pomocí krevního řečiště působit toxicky na další orgány. Dochází tak k poškození reprodukčních systémů, ledvin, jater a centrálního nervového systému [75]. Také byly při inhalaci olova zjištěny změny v ultrastruktuře bronchiálních buněk [76].

3.3.1.2 *Kadmium*

Kadmium do organismu může vstoupit inhalací cigaretového kouře nebo spolu s přijímanou potravou. Do přírody se dostává nejčastěji v důsledku spalování fosilních paliv nebo průmyslových aktivit. Vystavení kadmiu lze určit měřením hladiny kadmia v moči a krvi. V krvi se odráží nedávná expozice kadmiu (např. od kouření) [70][77].

Jedná se o vysoce toxický kov. Samotné kadmium není schopné přímo generovat volné radikály, ale bylo zaznamenáno nepřímé generování různých radikálů (např. superoxidový radikál, hydroxylový radikál) [78]. Byla také potvrzena schopnost kadmia generovat peroxid vodíku, který je významným zdrojem radikálů [79]. Kadmium nepřímo tvoří radikály nahrazením železa nebo mědi v různých cytoplazmatických a membránových proteinech, což způsobí zvýšené množství volné mědi a železa, které se potom podílí na oxidativním stresu [80].

Kadmium se akumuluje v kůře nadledvinek, játrech a kostech. Podobně jako olovo je kumulováno v těle při nedostatku vápníku. Způsobuje dušnost, selhání ledvin, srdce, plic, anémii, odvápnění kostí (souvisí se změnou metabolismu vápníku) a poškození reprodukčních orgánů. Díky pomalé detoxikaci patří kadmium mezi velmi nebezpečné kovy a je také klasifikováno jako karcinogen [55].

3.3.1.3 *Chrom*

V živých organismech se chrom nachází ve stopovém množství ve formě chromitého kationtu a je významným esenciálním prvkem. Nedostatek chromu se projevuje zhoršenou funkcí inzulínu, inhibicí syntézy bílkovin, cukrovkou 2. typu a srdečními chorobami [81]. Zvýšená koncentrace chromu v životním prostředí byla spojena například s uvolňováním chromu do ovzduší a odpadních vod, zejména z chemického průmyslu, hutnictví a průmyslovou emisí [82].

Účinky na zdraví a toxicita nebo karcinogenita chromu jsou spojeny s oxidačním stavem kovu v době expozice. Šestimocný chrom je klasifikován jako silně toxická látka a patří mezi nejvýznamnější kontaminanty životního prostředí [82]. Může působit jako silné oxidační činidlo. Jeho vysoká rozpustnost ve vodě, mobilita a biodostupnost z něj dělají nejvíce toxickou formu ze všech sloučenin chromu [83]. V průběhu redukce šestimocného chromu vzniká mnoho ROS např. hydroxylový radikál, singletový kyslík nebo superoxidový anion. Generované hydroxylové radikály jsou schopné reagovat s bázemi DNA [84][85].

Trojmocný chrom hraje důležitou roli při udržování správného metabolismu sacharidů a lipidů. Jeho toxicita je nižší než toxicita šestimocného chromu, jelikož trojmocný chrom je chemicky stabilnější. Navíc extracelulární trojmocný chrom hůře prochází buněčnou membránou než šestimocný chrom. Ačkoliv je biologický účinek trojmocného chromu nižší než šestimocného, je třeba věnovat mu patřičnou pozornost. Bylo například zjištěno, že trojmocný chrom je schopen produkovat ROS z peroxidu vodíku nebo lipidových peroxidů a způsobovat oxidativní stres v mozku, játrech a ledvinách [86][87].

3.3.1.4 Zinek

Zinek je esenciální prvek, který je v nízkých koncentracích pro člověka nezbytný. Deficit zinku se projevuje špatným hojením ran, poškozením imunitního systému nebo malým vzrůstem. Do přírody se zinek dostává například z průmyslových emisí vzniklých při úpravě rud, pokovování, spalování uhlí a dřeva, výroby skla nebo dopravou. Jeho přírodním zdrojem jsou zvětralé horniny nebo sopečný prach [69].

Ve velkých koncentracích je ovšem zinek toxický. Bylo zjištěno, že vysoké koncentrace zinku poškozují antioxidační systém glutathionu a zvyšují produkci ROS [88]. Po inhalaci par oxidu zinečnatého se může projevit tzv. horečka z kovů (příznaky jsou bolest hlavy, únava, kašel, horečka, pocení a dehydratace), degenerace pankreatu, osteoporóza, zástava růstu nebo neplodnost. Rozpustné formy zinku (síran zinečnatý nebo chlorid zinečnatý) mají mírně leptavé účinky a jejich požití může vyvolat zvracení a průjem. Při injekčním podání působí tlumivě na centrální nervový systém, ale při větších dávkách může způsobit obrnu [69].

3.3.1.5 Měď

Měď patří mezi esenciální prvky, je součástí enzymatických systémů a uplatňuje se při tvorbě krve. Její deficit způsobuje zhoršenou syntézu hemoglobinu a následně chudokrevnost. Měď je do přírody uvolňována z dopravy, hutního průmyslu nebo sléváren. V přírodě je zastoupena převážně ve formě svých rud [89][90].

Měďnatý ion může způsobovat oxidativní stres dvěma mechanismy: přímou katalýzou tvorby ROS nebo snížením hladiny glutathionu [91]. V přítomnosti radikálu superoxidového aniontu nebo redukčních činidel (kyselina askorbová, glutathion, dithiothreitol) je schopen katalyzovat tvorbu hydroxylových radikálů [92]. Hydroxylový radikál je extrémně reaktivní a může dále reagovat s biologickými molekulami (např. tvorba lipidového radikálu z nenasycených mastných kyselin). Vzniklé ROS mohou také způsobit přerušení řetězce DNA a oxidaci nukleových bází [93].

Při vyšších koncentracích se měď hromadí převážně v játrech a kostní dřeni. Otrava mědi se projevuje bolestmi břicha, krvavými průjmy, anémií. Mezi známá onemocnění spojována s obsahem mědi v těle patří Menkesova a Wilsonova nemoc. Menkesova nemoc postihuje primárně děti a je důsledkem genové mutace, která znemožňuje příjem mědi do těla. Projevem jsou žilkovité linky na hlavě, kde nedochází k růstu vlasů nebo kde vlasy rostou velmi málo a ve špatné kvalitě. Wilsonova nemoc je důsledkem genové mutace, která způsobí nepřírozené nahromadění mědi v játrech a mozku. Toto onemocnění vede k poškození nervového systému a funkci jater [94].

3.3.1.6 Železo

Železo je esenciálním kovem, který tělo potřebuje pro syntézu proteinů transportujících kyslík (hemoglobin a myoglobin) a pro tvorbu enzymů účastnících se přenosů elektronů [95]. Přibližně 65 % železa je v lidském těle vázáno v hemoglobinu, 10 % tvoří složku myoglobinu, cytochromů a železo obsahujících enzymů, 25 % je pro jeho uchování navázáno

na proteinech [96]. Nedostatek železa způsobuje například narušení syntézy hemoglobinu a anémii [95]. Železo je čtvrtým nejčastějším prvkem zemské kůry, do ovzduší se dostává resuspenzí, emisí spalovacích motorů, průmyslovou aktivitou a emisí z elektráren při spalování uhlí [97].

Ionty železa jsou rozpustné v biologických tekutinách a v přítomnosti kyslíku generují škodlivé hydroxylové radikály. Ve vodě jsou nestabilní a mají tendenci reagovat s molekulárním kyslíkem za vzniku železitých iontů a radikálu superoxidového aniontu. Oxidovaná forma železa je při neutrálním pH ve vodě nerozpustná a sráží se ve formě hydroxidu železitého [98].

Redoxní stav buňky je převážně závislý na redoxním páru železa (a mědi) a je udržován v přísných fyziologických mezích [99]. Vyšší koncentrace železa v těle je typická pro pacienty trpící hemochromatózou, která způsobuje rozsáhlé poškození orgánů. Toxické účinky železa byly dokázány jeho schopností katalyzovat vznik radikálů, které poškozují buňky [100]. Vysoký obsah železa vede ke zvýšenému obsahu radikálu superoxidového aniontu, což umožňuje železu se podílet na tvorbě organických a anorganických kyslíkových radikálů, jako je stimulace peroxidace lipidů a katalýza tvorby hydroxylových radikálů, které poškozují tkáň [96].

Modifikace genetického materiálu vzniklá volnými radikály představuje začátek mutagenese, karcinogeneze a stárnutí. Bylo zdokumentováno poškození DNA zprostředkované volnými radikály v různých rakovinových tkáních. Hydroxylový radikál produkovaný katalytickou reakcí dvojmocného železa je schopný se navázat na dvojnou vazbu DNA báze [101].

3.3.1.7 Nikl

Nikl je esenciálním prvkem pro rostliny, bakterie, eukaryoty a archea [102]. Do životního prostředí se nikl dostává při jeho výrobě a zpracování, spalování uhlí a ropy, těžbě a úpravě rud, výrobě a zpracování NiCd-akumulátorů nebo při spalování komunálního odpadu. Zdrojem niklu v lidském organismu mohou být poniklované hlavice umělých kloubů a kouření [69],[103].

Nikl je klasifikován jako karcinogen, který může měnit expresi genů [104]. Bylo prokázáno, že nikl způsobuje vznik ROS, které působí škodlivě na DNA včetně inhibice oprav DNA. Ve vodě rozpustné sloučeniny niklu působí toxicky na plíce. Expozice vyšším koncentracím niklu způsobuje kožní alergické reakce, fibrózu plic a rakovinu dýchacího traktu [105].

3.3.1.8 Kobalt

Kobalt patří mezi esenciální prvky. Jeho organická forma je nezbytnou součástí vitamínu B₁₂, který tvoří ze 4 % [106] a hraje velmi důležitou roli při tvorbě aminokyselin a některých bílkovin. Nedostatek kobaltu způsobuje poruchy syntézy vitamínu B₁₂ vedoucí k anémii a hypofunkci štítné žlázy [107]. V přírodě se kobalt vyskytuje v mnoha chemických formách

[108], do ovzduší je emitován například resuspenzí, spalováním fosilních paliv nebo těžbou a tavením kobaltových rud [109].

Kobalt může způsobit poškození DNA, ovlivňovat procesy jeho oprav a indukovat výměnu DNA mezi sesterskými chromatidy. Tvorba volných radikálů, která je katalyzována kobaltem, přispívá k jeho karcinogenitě a toxicitě. Jeho toxický účinek při vyšších koncentracích ovlivňuje hlavně plíce, což způsobuje astma nebo pneumonii [110]. Dále může způsobovat abnormální funkce štítné žlázy, nadprodukcii červených krvinek, plicní edém nebo periferní cévní trombózy [109].

3.3.1.9 Vanad

Hlavními zdroji vanadu v ovzduší jsou spalování topných olejů, ropné rafinérie a doprava. Vyskytuje se v různých oxidačních stavech, přičemž V^{+4} a V^{+5} jsou nejstabilnější a obvykle nejlépe rozpustné. Pětimocný vanad je považovaný za nejtoxičtější kvůli jeho mutagenním a karcinogenním účinkům, [111].

Byla prokázána jeho schopnost katalyzovat vznik superoxidového radikálu, který může tvořit peroxid vodíku a peroxid lipidu [112]. Vysoké koncentrace vanadu mají toxický účinek na respirační, oběhový a centrální nervový systém [113].

3.3.1.10 Mangan

Mangan je pro člověka esenciálním prvkem, avšak ve vysokých koncentracích může být toxický. Vzhledem k jeho bohatému zastoupení v lidské stravě nebyl nedostatek manganu u člověka klinicky zaznamenán. Nedostatek manganu u laboratorních zvířat byl spojen s ovlivněním růstu a skeletu, sníženými reprodukčními funkcemi, vrozenými vadami a abnormální tolerancí glukózy. Do ovzduší se dostává například resuspenzí, průmyslovou činností (těžba, zpracování, svařování), výrobou oceli a dopravou [114][115]. Mangan může existovat v několika oxidačních stavech, ovšem rychlá oxidace Mn^0 , nestabilita Mn^{+6} a Mn^{+7} ve zředěných roztocích vede k tomu, že většina manganu se nachází ve formě Mn^{+2} , Mn^{+3} a Mn^{+4} [115].

Oxidativní stres způsobený ROS katalyzovanými manganem se projevuje vznikem neurologických onemocnění [116]. Neurotoxicita manganu způsobuje psychologické a neurologické abnormality, které se podobají Parkinsonově nemoci. Vystavení vysokým koncentracím manganu může být spojováno také s Huntingovou a Alzheimerovou chorobou nebo sklerózou [117].

3.4 Inhalační biodostupnost PM

Potencionální zdravotní účinky PM záleží na řadě faktorů. Jedním z nich je biodostupnost prvků vázaných na PM, kterou lze definovat jako podíl prvku, který je rozpustný v SLF. Lze ji vypočítat jako podíl koncentrace rozpuštěné frakce prvku v dané SLF a celkové koncentrace prvku [118].

PM nejčastěji vstupují do organismu inhalací. Vzhledem ke škále mechanismů, kterými se aerosol usazuje a je zadržován nebo odstraňován z dýchací soustavy, je simulace podmínek pro biodostupnost obzvláště náročná. Částice aerosolu jsou vdechovány nosem nebo ústy, kde jsou ekvilibrovány na tělesnou teplotu a vlhkost. Částice následně vstupují do tracheobronchiální oblasti (dýchací cesty spojující hrtan s bronchioly) a plic (průdušky, průdušinky, plicní sklípky). Přestože se během cvičení nebo těžké práce, kdy je až 50 % vzduchu vdechováno ústy, mohou částice větší než 10 μm ukládat až v tracheobronchiální oblasti, jsou za primární místo záchytu těchto částic považovány horní cesty dýchací. Částice jemné a submikronové frakce pronikají hlouběji do dýchacího ústrojí a mají potenciál se ukládat v plicích [119][120]. Ultrajemné částice, které se chovají podobně jako molekuly plynu, dokonce mohou přes plicní sklípky proniknout do krevního řečiště, které umožní jejich distribuci do dalších orgánů jako jsou játra, ledviny, srdce nebo mozek [121]. Vzhledem k ovlivnění místa depozice velikostí částice představují pro člověka při vdechnutí větší zdravotní riziko prvky spojené s menšími částicemi než prvky spojené s většími částicemi.

Depozici částic v dýchacím systému ovlivňuje primárně velikost částice a mechanismy záchytu (setrvačný impakt, sedimentace, difúze, záchyt a elektrostatická depozice), které jsou podrobně popsány v jiných studiích [122][123]. Po depozici PM dochází k interakci mezi PM, povrchově aktivními látkami a extracelulárními plicními tekutinami, kde se sloučeniny vázané na částice začnou extrahovat do kapalné fáze. Rozpustné ionty prvků dispergované v plicních tekutinách mohou způsobovat lokalizované plicní toxikologické reakce (např. zánět), difundovat přes bariéru vzduch-krev, čímž se dostanou do tělního oběhu nebo vyvolat ochrannou reakci (např. potlačit produkci reaktivních sloučenin kyslíku) vedoucí k buněčné rezistenci vůči oxidantům [124].

Ve studiích zaměřených na zdravotní dopady aerosolu na lidské zdraví se v současné době stává trendem odklon od analýzy celkové koncentrace prvků směrem k analýze rozpustné frakce prvků. Primárním místem toxicity prvků uvolněných z PM je dýchací systém. Rozpustné frakce prvků však mohou pronikat až do krve a následně být v těle distribuovány, což vede k systémové toxicitě. Studium toxicity a biodostupnosti sloučenin vázaných na částice aerosolu vedlo k vývoji různých simulovaných plicních tekutin (např. Gambblův a Hatchův roztok, Umělá lysozomální tekutina, Simulovaná kapalina plicních sklípků atd.) a mnoho *in vitro* modelů inhalační biologické dostupnosti. Předpokládá se, že SLFs budou simulovat transfer biodostupné frakce prvků z PM do reálných plicních tekutin. Přestože se díky své jednoduchosti a efektivitě stává testování biodostupnosti stále populárnější, je kvůli odlišným postupům a různým složení SLF srovnání výsledků velmi problematické [119].

3.4.1 Testy inhalační biodostupnosti

Způsoby testování inhalační biodostupnosti prvků z PM lze rozdělit do tří kategorií: *in vivo* inhalační biodostupnost, *in vitro* expozice kultivovaných buněk a *in vitro* inhalační biodostupnost [119].

3.4.1.1 Testy inhalační biodostupnosti *in vivo*

Při testu biodostupnosti *in vivo* jsou laboratorní zvířata (např. myši, krysy) exponována různým koncentracím a velikostem částic obsahujících daný prvek [126][127]. Zvíře může být aerosolu exponováno buď celým tělem nebo jenom částečně (pouze hlavou nebo nosem). V případě expozice pouze hlavy nebo nosu zvířete je zapotřebí speciální držák, který je upraven podle tvaru a velikosti zvířete [128]. Po expozici jsou zvířata usmrcena a koncentrace kovu je analyzována v různých tělních tekutinách (krev, plazma, bronchoalveolární tekutina), buňkách, tkáních, orgánech (krev, plíce, mozek, srdce, játra, slezina a kosti) nebo exkrementech. Doba expozice se může dělit na akutní (trvajících několik dní), subchronickou (týdny) a chronickou (3 měsíce) [128].

Test inhalační biodostupnosti *in vivo* nemusí být proveditelný z důvodu finanční nákladnosti experimentu nebo pokud není k dispozici dostatečné množství vzorku pro generování aerosolu v dostatečné koncentraci a po přiměřenou dobu. Vzorek také může být příliš toxický, takže jeho záchyt na kůži nebo chlupech testovaného subjektu by při následné manipulaci představoval zdravotní riziko pro lidi provádějící experiment. V důsledku těchto omezení byla vyvinuta metoda přímého zavedení vzorku do plic subjektu (tzv. intracheální instilace), jako alternativa přímé inhalaci. Vzorek je do plic zaveden obvykle skrz dutinu ústní pomocí katetru nebo jehly [129].

Převedení získaných výsledků z *in vivo* testů na zvířatech na člověka je ovšem komplikované. Řada studií používá příliš vysoké koncentrace sloučenin, také použití jednotlivých prvků může být zavádějící, jelikož komplexní směsi látek v PM mohou mít významně odlišné toxické účinky [130]. Morfeld a kol. (2015) ověřili, že mnoho studií použilo nesprávné předpoklady a výpočty tykající se např. plochy plic nebo rychlosti a odstraňování částic ze zachycené frakce, což znemožňuje kvalitní převedení dat získaných z experimentů na zvířatech na člověka [131]. Vztažení výsledků experimentu na člověka také mohou ztěžovat výrazné mezidruhové rozdíly ve fyziologii plic, retenci a absorpci při inhalaci mezi testovanými zvířaty a lidmi.

3.4.1.2 *In vitro* expozice kultivovaných buněk

In vitro kultivované lidské nebo zvířecí buněčné kultury exponované roztokům aerosolu nebo kovu lze využít pro studium mechanismu toxicity a ovlivnění toxicity interakcí mezi kovy [132]. Pro tyto studie se primárně používají monokultury plicních epiteliálních a alveolárních makrofágových buněk, které jsou bezprostředním místem ukládání a rozpouštění prvků vázaných na PM [119]. Bylo zjištěno, že pokud jsou částicím exponovány buňky pěstované v suspenzi, je primárním mechanismem interakce kovu s buňkou difúze, což se neshoduje s reálnou depozicí částic v plicích. Z toho důvodu byl vyvinut systém expozice vzduch-

kapalina, kde jsou buňky částečně exponovány vzduchu a je napodobována depozice částic na buňky při dýchání [133].

Na zkoumání mechanismu toxicity jednotlivých prvků [134][135][136] nebo jejich kombinovanou toxicitu [132][137][138] pomocí kultivovaných buněk je provedeno mnoho studií. Studie expozice buněčných kultur *in vitro* jsou jednodušší, levnější a méně časově náročné než *in vivo* studie inhalační biodostupnosti. Nicméně vyskytuje se zde několik problémů. Většina studií používá jednodušší buněčné monokultury, které jsou odstraněny z jejich přirozeného prostředí a podobně jako při studiích *in vivo* jsou při některých testech použity příliš vysoké koncentrace prvků [119].

3.4.1.3 Testy inhalační biodostupnosti *in vitro*

Testy inhalační biodostupnosti *in vitro* slouží jako potencionální alternativa k *in vivo* testům, které jsou i přes své nedostatky často považovány za nejrelativnější metodu pro zhodnocení biodostupnosti prvků. Pro stanovení biodostupné frakce prvků jsou vzorky po stanovenou dobu extrahovány v roztoku SLF, nerozpustná frakce je po ukončení extrakce od vzorku oddělena (filtrací nebo centrifugací). Biodostupnost se vypočítá jako podíl koncentrace prvků extrahovaných SLF k celkové koncentraci prvků ve vzorku [139].

Vzhledem k rozmanitosti *in vitro* testů mohou být jejich výsledky vzájemně nesrovnatelné. *In vitro* testy se mohou lišit typem (statické, dynamické, jednostupňové, vícestupňové) i dobou extrakce nebo složením roztoků použitých k extrakci. Při použití statických extrakcí je vzorek buď volně suspendován do SLF, suspendován uvnitř dialyzační membrány obsahující SLF nebo zapouzdřen mezi dva filtrační papíry. U dynamických extrakcí je vzorek zapouzdřen mezi dvě membrány, přes které nepřetržitě protéká SLF [124]. K extrakci prvků z PM se častěji používají statické metody.

Kvůli předpokladu, že škodlivé látky rozpouštěné v jednoduchých roztocích se mohou také snadno rozpustit v reálných plicních tekutinách, se dříve pro určení biodostupnosti používala hlavně deionizovaná voda a jednoduché vodné roztoky (chlorid sodný, octan amonný, kyselina citrónová, citronan amonný, fosfátový pufr) [119][140]. Ovšem díky složitému složení reálných plicních tekutinách, různým hodnotám pH a iontovým silám je biodostupnost v reálných plicních tekutinách a jednoduchých roztocích odlišná [141]. Z tohoto důvodu nelze považovat jednoduché roztoky jako reprezentativní měřítko pro reálnou biodostupnost prvků v dýchacím systému. Přesto se deionizovaná voda stále často používá pro určení biodostupnosti prvků, jelikož nedochází k nežádoucím interferencím při měření prvků na ICP-MS, má neutrální pH a výsledky získané při extrakci do deionizované vody lze použít při porovnání výsledků s jinými studii [139][142].

Následně byly vyvinuty techniky sekvenční extrakce, které umožňují extrakci prvků s různou chemickou speciací pomocí agresivnějších roztoků. Pomocí těchto extrakcí jsou kovy rozděleny do různých frakcí (rozpustné ve vodě, uhličitany, oxidy a sulfidy) a je následně možné určit, kromě speciace kovu, i různé chemické podmínky vedoucí k rozpuštění prvku [143]. Silně kyselé extrakční roztoky využité v sekvenčních extrakcích však nemohou představovat relevantní podmínky pro procesy v dýchacích cestách [142]. Z toho důvodu nelze biodostupnou frakci stanovenou pomocí těchto technik považovat za adekvátní při

hodnocení reálné biodostupnosti prvků, což potvrzuje fakt, že tyto metody nebyly korelovány s výsledky z *in vivo* testů [144].

Pro přesnější stanovení biodostupnosti prvků byly vyvinuty fyziologicky založené techniky, které stanovují biodostupnost prvků extrakcí do SLF, přičemž jsou podmínky extrakce co nejvíce podobné podmínkám v reálném dýchacím systému. Mezi nejčastěji používané SLF patří umělá lysozomální tekutina, Gamblův a Hatchův roztok [145]. Přestože simulované plicní tekutiny napodobují fyziologicky relevantní tekutiny, jejich složení není identické s reálným složením plicních tekutin. Z toho důvodu nemusí rozpustnost prvků v SLF přesně odpovídat reálné biodostupnosti [146].

3.4.2 Simulované plicní tekutiny

3.4.2.1 *Gamblův roztok a jeho modifikace*

Gamblův roztok byl použit již v roce 1967, jeho složení je podobné složení extracelulární tekutině kosterního svalu. Původní Gamblův roztok měl neutrální pH (7,4) a skládal se z kationtů (hořčík, sodík, vápník a draslík), aniontů (hydrogenuhličitan, chlorid, monohydrogenfosforečnan, síran, organické kyseliny, bílkoviny), kyseliny uhličitě a neelektrolytů (glukóza, aminokyseliny) [119][147]. S vývojem *in vitro* metod pro měření biodostupnosti docházelo k modifikacím původního Gamblova roztoku. V současné době lze tyto modifikace rozdělit do čtyř tříd: původní Gamblův roztok, Gamblův roztok modifikovaný organickými sloučeninami, Gamblův roztok modifikovaný simulátorem séra a Gamblův roztok modifikovaný plicními povrchově aktivními látkami [119].

Modifikace Gamblova roztoku organickými sloučeninami, které výrazně ovlivňují biodostupnost prvků, je nejčastěji prováděna přidávkem glycinu, cysteinu, hovězího sérového albuminu nebo mucinu [148][149]. Organické sloučeniny se chovají jako slabá chelatační činidla a umožňují rozpouštění i jinak nerozpustných sloučenin [140]. Glycin byl do Gamblova roztoku původně přidán jako náhrada proteinu a aby zabránil ucpávání pórů na filtru při dynamické extrakci [150]. Při studiu vlivu aminokyselin na chelataci prvků Julien a kol. (2011) zjistili, že aminokyseliny mohou podporovat biodostupnost prvků pomocí jejich začlenění do aminokyselinových struktur [142]. Rozdílné výsledky biodostupnosti z dostupných studií naznačují, že určité aminokyseliny způsobují vyšší biodostupnost různých prvků. Z toho důvodu výsledná biodostupnost prvků závisí na použité modifikaci Gamblova roztoku.

Kanapilly a kol. (1973), kromě modifikace Gamblova roztoku glycinem, provedli další změny ve složení a výslednou tekutinu nazvali „Simulátor séra“. Acetát byl nahrazen citrátem, který reprezentoval organické kyseliny. Dále byla přidána kyselina sírová, ionty hořčíku a draslíku byly vynechány a ke stabilizaci pH (7,3) tekutiny byl použit chlorid amonný [150]. Vzniklá tekutina měla dobrou korelaci s výsledky z inhalačních *in vivo* testů sloučenin uranu [151], ovšem přidáním amonných iontů a odebráním iontů hořčíku a draslíku vznikla tekutina, která je nejméně podobná extracelulární tekutině popsané Gamblem [119].

K modifikaci Gamblova roztoku jsou ve velké míře používány také povrchově aktivní látky, což je směs skládající se z lipidů a proteinů vylučovaných buňkami typu II v alveolách

a dolních bronchiolách [152]. Povrchově aktivní látky se mohou výrazně podílet na snížení povrchového napětí na povrchu plyn-kapalina [139]. Nejčastěji se z tohoto důvodu Gamblovův roztok modifikuje přidáním dipalmitoylfosfatidylcholinu (DPPC), který je přirozenou součástí plicního surfaktantu. DPPC, které působí jako slabé chelatační činidlo, zvyšuje smáčivost hydrofobních částic, zlepšuje kontakt mezi vyluhovacím roztokem a kontaminujícími látkami a zabraňuje agregaci částic [153]. Li a kol. (2016) zjistili, že odstranění DPPC z Gamblova roztoku snižuje biodostupnost Pb o 5,6 – 18 %, což naznačuje, že povrchově aktivní látky hrají důležitou roli při studiu biodostupnosti Pb *in vitro* [154].

3.4.2.2 Hatchův roztok

Složení Hatchova roztoku vychází ze složení slizniční vrstvy popsané Gary Hatchem v roce 1992. Hatch popsal lemování lidského dýchacího systému dvěma vrstvami extracelulárních sekrecí. Horní vrstva je silnější „gelová“ vrstva hlenu, kde jsou inhalované částice zachytávány, pod ní se nachází vrstva „sol“, která pokrývá řasinky. Kromě ochrany plic před dehydratací zachytává slizniční vrstva PM, toxiny a mikroorganismy a brání jim v proniknutí do podkladové vrstvy, plicního epitelu a následně krve [149]. Hatchův roztok tudíž obsahuje zvýšené koncentrace bílkovin, povrchově aktivních látek, komplexních organických molekul a enzymů. Bylo zjištěno, že zvýšené koncentrace bílkovin a DPPC způsobují vyšší biodostupnost arsenu a olova v Hatchovu roztoku než v původním i modifikovaných Gamblových roztocích [149][155].

3.4.2.3 Umělá lysozomální tekutina

Umělá lysozomální tekutina (*Artificial lysosomal fluid*, ALF) simuluje prostředí uvnitř lysozomů makrofágů, které pohlcují část částic během několika hodin po vdechnutí. Tekutina byla nejprve vytvořena okyselením Gamblova roztoku pomocí kyseliny chlorovodíkové nebo pufru na pH 4,5 [156], jelikož pH tekutiny uvnitř lysozomu makrofágu je obecně nižší než neutrální plicní tekutina. V současné době se nejvíce používají upravená složení ALF, která více odpovídají reálnému prostředí makrofágů [157][158][159].

3.4.2.4 Simulovaná tekutina plicních sklípků

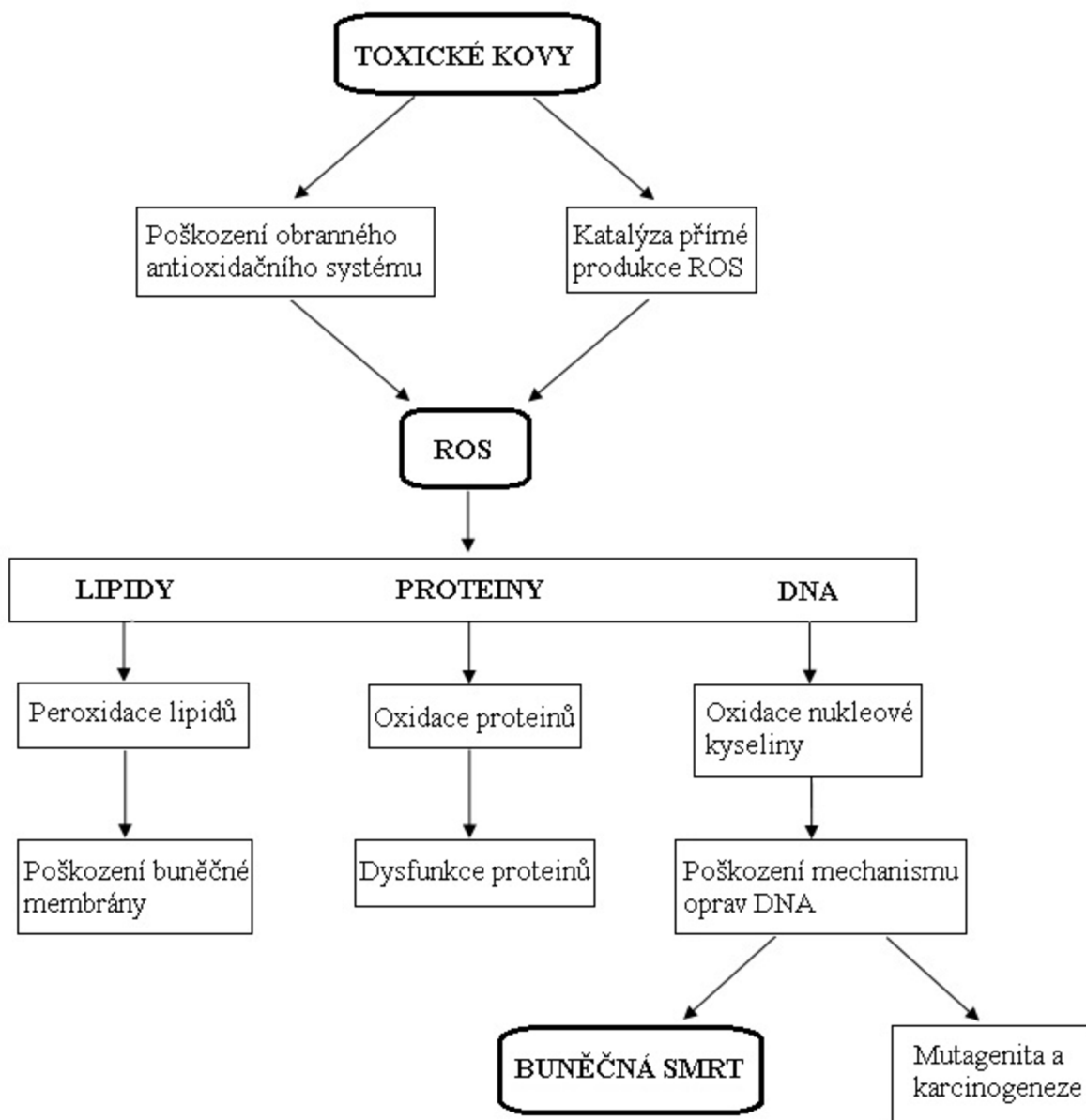
Simulovaná tekutina plicních sklípků (*Simulated alveoli fluid*, SAF) byla navržena v roce 2016 na Akademii věd České republiky na Ústavu analytické chemie (oddělení analytické chemie životního prostředí). Je tvořena dipalmitoylfosfatidylcholinem, který je hlavní složkou plicního surfaktantu, Ca²⁺ ionty a Clark-Lubs pufrům o pH 7,4. Povrchové napětí SAF je nižší než povrchové napětí deionizované vody nebo Gamblova roztoku, a je blíže k hodnotě povrchového napětí reálného plicního surfaktantu [139].

3.5 Oxidativní stres

Oxidativní stres je nevyhnutelným aspektem aerobního života buněk. Je to výsledek nerovnováhy mezi produkcí reaktivních forem kyslíku (*Reactive Oxygen Species*, ROS)

a antioxidantů [160]. ROS jsou odvozené od molekulárního kyslíku a zahrnují volné radikály i látky neradikálové povahy, které mohou radikály tvořit.

Volnými radikály jsou molekuly nebo molekulární fragmenty obsahující jeden nebo více nepárových elektronů, což je činí značně reaktivními. Nejdůležitější třída radikálů generovaná v živých systémech pochází z kyslíku. Radikál superoxidového aniontu ($O_2^- \cdot$) vzniká metabolickými procesy nebo aktivací kyslíku v důsledku ozáření. Superoxidový radikál je považován za primární ROS schopný interagovat s dalšími molekulami za tvorby sekundárních ROS (např. hydroxyl radikál, singletový kyslík, peroxy, hydroperoxy) [112].



Obr. 4: Mechanismus oxidativního stresu způsobeného kovy [170].

Volné kyslíkové radikály a další reaktivní druhy kyslíku vznikají ve všech aerobních organismech, kde mají důležitou roli. Za normálních fyziologických koncentrací se ROS podílejí na regulaci funkce a aktivitě několika transdukčních cest. Většina kroků mezibuněčné signalizace může být ovlivněna ROS. Uplatňují se i při regulaci (indukce nebo prevence)

apoptózy, která pomáhá udržovat buněčnou homeostázu. Odchytky v apoptotických drahách se podílejí na několika chorobotvorných procesech [110][161].

Účinky ROS mohou být neutralizovány pomocí antioxidantů. Ovšem nadměrná produkce ROS překoná obrannou funkci antioxidantů za vzniku oxidativního stresu, který je pro buňky škodlivý a vede ke vzniku různých onemocnění včetně kardiovaskulárních onemocnění, neurologických poruch, diabetu a rakoviny. Pokud jsou biomolekuly (DNA, proteiny, lipidy) poškozeny ROS, dochází k poruchám metabolického stavu, poškození dusíkatých bází nebo narušení řetězců DNA [110][161]. Na Obr. 4 je zobrazen schematický mechanismus oxidativního stresu.

Schopnost prvků (popřípadě částic atmosférického aerosolu) generovat ROS je definována jako oxidativní potenciál (OP). V současné době se OP považuje za přesnější měřítko toxicity PM než hmotnostní koncentrace PM nebo koncentrace konkrétních chemických látek obsažených v PM, jelikož spojuje různé biologicky relevantní vlastnosti částic (včetně velikosti, povrchu a chemického složení), které mohou být spojovány s nepříznivými účinky aerosolu na lidské zdraví [163]. Z toho důvodu se oxidativní potenciál PM i jejich jednotlivých komponent stává v současnosti předmětem mnoha studií a k jeho měření byly vyvinuty různé metody. Patří mezi ně *in vitro* buněčné testy (využití makrofágů a epiteliálních buněk), *in vivo* testy (kvantifikace markerů dýchacích cest, systémový oxidativní stres) a *in vitro* acelulární testy (např. pomocí elektronové spin rezonance) nebo měření úbytku kyseliny askorbové, glutathionu, dithiothreitolu, dichlorofluorescinu). Všechny testy jsou specifické a zatím nebyl vybrán žádný z testů, který by se dal považovat za standardní. Mezi těmito testy mají nebuněčné testy oproti ostatním výhodu díky své neinvazivnosti, rychlosti, jednoduššímu provedení a nízkým nákladům [164],[165].

Pro většinu zmíněných testů jsou částice extrahovány metanolem nebo deionizovanou vodou. Metanol extrahuje většinu reaktivních organických sloučenin z PM. Metanol ani deionizovaná voda nejsou plně reprezentativní pro fyziologické podmínky, jelikož se v různých vlastnostech (např. pH, iontová síla, nepřítomnost ligandů) liší od fyziologických tekutin v plicích. Z toho důvodu Calas a kol. (2018) testovali vznik ROS pomocí dithiothreitolu s využitím extrakce do simulované plicní tekutiny (SLF). Při porovnání výsledků oxidativního potenciálu s využitím extrakce do vody a extrakce do SLF, bylo zjištěno snížení oxidativního potenciálu při použití extrakce částic do SLF. Výsledky naznačují, že ligandy obsažené v SLF indukují pokles oxidativního potenciálu ve srovnání s extrakcí do vody [166].

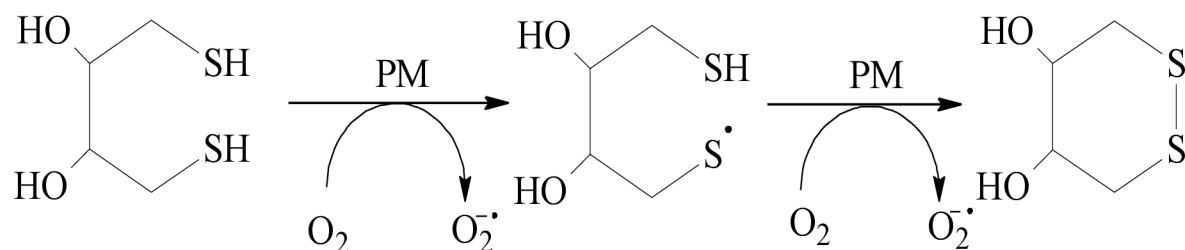
3.5.1 Test Dithiothreiolem

Jednou z nejpoužívanějších metod pro určení oxidativního potenciálu je test dithiothreiolem (OP^{DTT}). Dithiothreitol (DTT), známý také jako Clelandovo činidlo, působí jako náhrada buněčných redukčních látek (např. NADH/NADPH). Cílem DTT testu je napodobit interakci mezi fyziologickými redukčními činidly a aerosolovými složkami čistě pomocí chemické analýzy. Různé složky PM mohou reagovat buď přímo s redukčními činidly (antioxidanty) nebo přenášet elektrony z redukčního činidla (antioxidantu) na kyslík, což v prvním případě

vede k vyčerpání antioxidantů a ve druhém k vyčerpání antioxidantů a generaci ROS [163][167].

Původně byl DTT, díky svému nízkému redoxnímu potenciálu, využíván jako ochranné činidlo při redukci disulfidových můstků v bílkovinách a prevenci dimerizace atomů síry thiolovaného DNA. V roce 2002 Kumagai a kol. zjistili, že chinony v částicích pocházejících z výfukových emisí byly schopné podpořit tvorbu ROS v biologických systémech a rychle reagovat s proteinovými thioley [168]. První chemický test pro měření oxidativního potenciálu s využitím DTT provedli Cho a kol. (2005) [169], od té doby se DTT test začal široce používat při měření OP různých aerosolových systémů, včetně primárního a sekundárního aerosolu [167].

Redox-aktivní látky PM katalyzují oxidaci thiolové skupiny molekuly DTT a vznik stabilního cyklického disulfidu. Při oxidaci thiolové skupiny dochází k přesunu elektronu z DTT na kyslík, což vede ke generaci superoxidového radikálu a dalších ROS [163][170][171]. Při inkubaci DTT s extraktem PM nebo kovu dochází k oxidaci DTT a vzniku ROS. Neoxidovaný DTT pak reaguje s 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoovou kyselinou (DTNB) za vzniku 2-nitro-5-thiobenzoové kyseliny (TNB). Koncentrace vzniklé TNB je určena měřením pomocí UV-VIS spektrofotometru při vlnové délce 412 nm [72]. Oxidativní potenciál se vypočítá z míry úbytku DTT, která je přímo úměrná koncentraci redox-aktivních látek. Výsledný OP je možné normalizovat objemem prosátého vzduchu pro posouzení expozice člověka redox-aktivním látkám nebo hmotnostní koncentrací částic pro posouzení schopností PM vyčerpát příslušné antioxidanty [171].



Obr. 5: Schéma oxidace DTT redox-aktivními složkami PM.

Hlavní složky PM způsobující oxidativní stres při využití DTT testu jsou přechodné kovy a některé organické sloučeniny (např. chinony, polycyklické aromatické uhlovodíky) [172]. Chinony v přítomnosti DTT mohou katalyzovat přenos elektronů za vzniku oxidovaného DTT, semichinonových radikálových aniontů a hydrochinonů. Následnou reakcí semichinonů a hydrochinonů s molekulárním kyslíkem dochází k regeneraci chinonu a produkci superoxidových aniontů, které mohou dále tvořit peroxid vodíku [167]. Pro zhodnocení OP jednotlivých prvků se používají roztoky anorganické soli daného kovu. Přechodné kovy katalyzují produkci ROS pomocí Haber-Weissova cyklu s využitím Fentonovy reakce, kde dochází ke vzniku peroxidu vodíku. Vzniklý peroxid vodíku může následnou reakcí s Fe²⁺ přecházet na vysoce reaktivní hydroxylový radikál [167][171]. Přestože OP prvků jsou kvantifikovány pomocí roztoků anorganických solí, celkový oxidativní potenciál PM závisí také na hmotnostní koncentraci daného kovu. Například železo, které mírně přispívá k OP^{DTT} při využití standardních roztoků, představuje většinu úbytku DTT při testech s PM, kvůli

vysokým koncentracím železa v aerosolu. Dalšími faktory při zhodnocení celkového OP jsou rozpustnost kovových iontů, která může být ovlivněna přítomností organických ligandů v PM nebo interakce mezi jednotlivými složkami PM. Z těchto důvodů nebyla přesná míra OP způsobená jednotlivými kovy nebo chinony stále plně objasněna [167][173].

Stanovení oxidativního potenciálu pomocí DTT testu je preferovanou metodou pro zhodnocení OP, jelikož poskytuje komplexní měření díky své vysoké citlivosti na přechodné kovy a organické sloučeniny, a vysoce koreluje s negativními účinky PM na lidské zdraví [173]. OP^{DTT} byl pozitivně korelován se vznikem cytotoxicity u buněk křečků [174], astmatem [175] nebo srdečním selháním [176].

3.5.2 Test tekutinou dýchacích cest

Po inhalaci PM nejdříve interaguje s tekutinou dýchacích cest (*Respiratory Track Lining Fluid*, RTLFL), která obsahuje vysoké koncentrace nízkomolekulárních antioxidantů (kyselina askorbová, kyselina močová a redukovaný glutathion) zajišťující ochranu dýchacích cest [163]. Tento test detekuje rychlost úbytku koncentrace antioxidantních molekul ve zjednodušeném roztoku RTLFL (pH 7,0). Vzorek aerosolu je inkubován v roztoku RTLFL při 37 °C po dobu 4 hodin. Po inkubaci je pomocí HPLC [177] nebo UV-VIS metody změřen úbytek koncentrací antioxidantů [178]. Koncentrace redukovaného glutathionu je vypočítána z koncentrace celkové glutathionu a glutathion disulfidu, které se stanovují pomocí testu recyklace enzymu. Míra úbytku antioxidantů v RTLFL roztoku je přímo úměrná oxidativnímu potenciálu PM [178].

3.5.3 Test kyselinou askorbovou

Test kyselinou askorbovou je považován za zjednodušenou alternativu k RTLFL testu. Tento test simuluje mechanismus přenosu elektronů z askorbové kyseliny na kyslík. Vzorky PM jsou inkubovány s fyziologicky relevantními koncentracemi kyseliny askorbové, jejíž úbytek je měřen v několika časových intervalech s využitím UV-VIS spektrometru při vlnové délce 265 nm. Oxidativní potenciál PM je následně vypočítán z rychlosti oxidace kyseliny askorbové [179].

3.5.4 Test Dichlorofluorescinem

2',7'-dichlorofluorescin (DCFH) se využívá k detekci vzniku ROS pomocí fluorescenční techniky. DCFH je v přítomnosti peroxidázy křenu selského pomocí ROS oxidován na fluorescenční dichlorofluorescein (DCF). Koncentraci vzniklého dichlorofluoresceinu lze s využitím fluorescenčních technik měřit při excitačních a emisních vlnových délkách 485 a 530 nm. Výslednou intenzitu fluorescence lze převést na ekvivalenty peroxidu vodíku. Peroxid vodíku je schopen DCFH oxidovat pouze za přítomnosti katalyzátoru (peroxidáza křenu), což může vést k nadhodnocenému odhadu měřeného oxidativního potenciálu, jelikož přítomnost katalyzátoru indukuje až trojnásobné zvýšení oxidace DCFH [181][181].

3.5.5 Elektronová spinová rezonance

Elektronová spinová rezonance (ESR) je jediným nebuněčným testem, který poskytuje přímou kvantifikaci látek obsahujících nepárové elektrony, jako jsou volné radikály a ionty přechodných prvků. Jedná se ovšem o nákladnou a komplikovanou instrumentální metodu využívající přístroj s nízkou citlivostí vzhledem k nízké koncentraci a životnosti radikálů. Oxidativní potenciál PM je měřen na základě schopnosti PM katalyzovat produkci hydroxylových radikálů prostřednictvím Fentonovy reakce v přítomnosti peroxidu vodíku. Pro záchyt hydroxylového radikálu je využíván 5,5-dimethyl-1-pyrrolun-N-oxid. Na oxidaci H_2O_2 a tvorbu hydroxylového radikálu jsou obzvláště citlivé přechodné kovy [171][173].

3.6 Stanovení prvků v aerosolu

Prvky v atmosférickém aerosolu se stanovují s využitím analytických metod používaných pro analýzu pevných a kapalných vzorků [182]. V praxi výběr a kombinace analytických metod závisí na typu vzorku a cílových parametrech [183]. Stanovení a detekce prvků v atmosférickém aerosolu může být prováděno *off-line* nebo *on-line* uspořádáním. *Off-line* uspořádání využívá k rozkladu buď destruktivní (rozklad filtru kyselinami za zvýšené teploty) nebo nedestruktivní (analýza filtru přímo) techniky. *On-line* uspořádání využívá průtokovou analýzu snižující riziko kontaminace vzorku v průběhu analýzy.

Mezi destruktivní techniky se řadí atomová absorpční spektroskopie (AAS), hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) nebo atomová emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES), atomová fluorescenční spektroskopie (AFS). Nedestruktivními technikami jsou různé druhy rentgenové fluorescence (EDXRF, S-XRF, TRXRF), protony indukovaná rentgenová emise (PIXE) nebo neutronová aktivační analýza (INAA). Technika INAA se sice řadí mezi nedestruktivní, ovšem po ozáření se filtr stává radioaktivním a nelze ho využít pro další analýzy. Tyto metody se od sebe kromě způsobu přípravy vzorku liší v detekčních limitech a nákladech na analýzu. Metody XRF a PIXE jsou nejčastěji používané, protože kvantifikují více než 40 detekovatelných prvků, jsou nedestruktivní a relativně levné [184].

K dalším technikám používaným pro analýzu prvků v aerosolu patří UV-VIS spektroskopie, voltametrie, iontová a kapalinová chromatografie (IC, HPLC), kapilární elektroforéza s přímou UV detekcí. Tyto techniky se liší v přípravě vzorku, limitech detekce, v použití a nákladech [185][186].

Kovy na exponovaných filtrech lze přímo stanovit pomocí laserem indukované plazmové spektroskopie (LIBS). Intenzivní pulzní laserový paprsek je zaměřen na vzorek (částice aerosolu na filtru) a způsobí jeho disociaci a částečnou ionizaci. Spektrální a časově rozlišená detekce charakteristických atomových emisí poskytuje informace o elementárním složení vzorku [187]. Dále se využívá metoda laserové ablace ve spojení s hmotnostní spektrometrií indukčně vázaného plazmatu (LA-ICP-MS). Tato metoda využívá laserového záření k odpaření reprezentativní části analyzovaného aerosolu, který je poté transportován nosným inertním plynem do ICP-MS [188].

3.7 Vybrané metody pro analýzu prvků v atmosférickém aerosolu

3.7.1 Atomová absorpční spektroskopie (AAS)

Atomová absorpční spektroskopie je analytická spektrometrická metoda sloužící ke stanovení obsahu jednotlivých prvků v analyzovaném vzorku. Lze jí stanovit přes 60 prvků periodické tabulky s citlivostí od desetin $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ až méně než $1\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [189].

3.7.1.1 Princip a instrumentace

AAS využívá absorpci záření volnými atomy sledovaného prvku. Úbytek primárního záření je mírou koncentrace volných atomů prvku, který záření absorboval. Pro každý prvek jsou charakteristické rozdíly energií mezi jednotlivými elektronovými stavy atomu.

Pro generování volných atomů se nejčastěji používá plamen, který podle druhu oxidovadla a paliva dosahuje různých teplot. Převážná část volných atomů prvků se nachází v základním energetickém stavu a pohlcením fotonu se excituje na vyšší energetické hladiny. S největší pravděpodobností dochází k přechodům mezi základním a nejbližším excitovaným stavem. Těmto přechodům odpovídají základní rezonanční čáry, které jsou pro atomy jednotlivých prvků zcela specifické. Při sestupu zpět na základní hladinu dochází k uvolnění energie v podobě fotonu nebo tepelného záření. K emitaci tepelného záření je spotřebována energie, což má za následek snížení intenzity signálu [189].

Lambert-Beerův zákon popisuje rozdíl mezi počáteční intenzitou a intenzitou emitovaného záření neboli absorbancí:

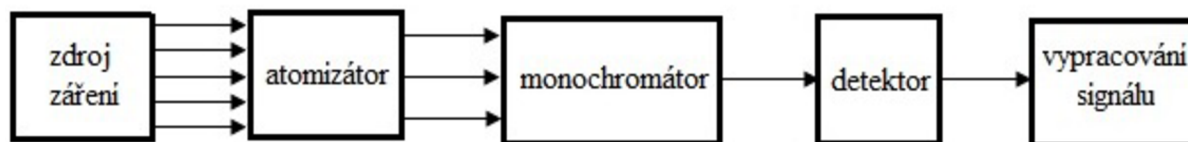
$$\phi = \phi_0 \cdot e^{-\kappa N l} \quad (1)$$

kde ϕ je propuštěný tok záření, ϕ_0 původní tok záření, κ je spektrální absorpční koeficient, l je tloušťka absorbující vrstvy s celkovým počtem volných atomů N . Absorbance (A) definovaná jako $A = \log \frac{\phi_0}{\phi}$ udává lineární vztah mezi fotometrickou veličinou A a počtem volných atomů N [189].

$$A = \log \frac{\phi_0}{\phi} = \frac{\kappa l N}{2,303} \quad (2)$$

Tento vztah v praxi umožňuje vztáhnout měřenou hodnotu absorbance na koncentraci analytu ve vzorku. Metoda atomové absorpční spektrometrie je relativní metodou. Hodnoty absorbance odpovídající standardním roztokům o známé koncentraci analytu jsou porovnány s hodnotami absorbance zjištěnými pro neznámé vzorky. Tímto způsobem je zjišťována neznámá koncentrace analytu a také jsou kompenzovány instrumentální vlivy [189].

Atomový absorpční spektrometr se skládá ze zdroje záření, atomizátoru (produkuje volné atomy v základním energetickém stavu), monochromátoru, detektoru a výpočetního systému (zpracovává signál) [189]. Základní schéma metody ukazuje Obr. 6.



Obr. 6: Blokové schéma atomového absorpčního spektrometru.

Nejčastěji používaným zdrojem záření je čárový zdroj (LS AAS), který emituje intenzivní zářivou energii soustředěnou do úzkých spektrálních intervalů, využitelných pro charakteristickou absorpci záření. Mezi další zdroje patří kontinuální zdroje záření o vysokém výkonu (vysokotlaké xenonové výbojky), monochromatické zdroje s vysokou vyzářenou energií (synchrotronové záření urychlovačů) [189].

V praxi se používají tři typy čárových zdrojů (výbojky s dutou katodou, bezelektrodové výbojky, superlampy). Dalším využitelným zdrojem jsou laserové diody, které mohou emitovat monochromatické, stabilní a intenzivní záření. Ovšem tato technika se v posledních letech příliš nerozvíjela, jelikož AAS je v řadě laboratoří nahrazena výkonnějšími technikami (např. ICP-MS) [189].

Absorpční prostředí, kde volné atomy analytu vznikají, musí mít teplotu přibližně 2000 až 3000 K (vysoká teplota naruší chemické vazby). Atomizaci lze provádět v plameni, elektrotermicky nebo v křemenných atomizátorech. Při elektrotermické atomizaci je dávkován malý objem vzorku (10–50 μl) na elektricky vyhřívanou grafitovou trubici. Aby se zabránilo přístupu kyslíku k rozžhavené trubici a volným atomům analytu, elektrotermický ohřev grafitové trubice probíhá v atmosféře velmi čistého argonu. Vzorek je na trubici dávkován pomocí mikrodávkače, po nadávkování vzorku je teplota trubice zvyšována v několika krocích podle teplotního programu. Pro ovlivnění termických procesů v atomizátoru, minimalizaci ztráty analytu a dokonalejší odstranění složek matrice během pyrolýzy (rozklad matrice na plynné produkty a jejich odstranění) se používají tzv. modifikátory matrice. Ty mohou měnit matici vzorku a usnadnit odpaření jejich složek během pyrolýzy nebo působí jako termické stabilizátory analytu a umožní aplikovat větší teplotu během pyrolýzy. V případě plamenové atomizace se analyzovaný vzorek přináší do plamene formou aerosolu. Roztok je zmlžován pneumatickým zmlžovačem pomocí proudícího plynu (např. vzduch, oxid dusný). Každý AAS spektrometr je vybaven regulátorem a měřičem průtoku paliva i oxidovadla. Poměrem obou plynů ve směsi se získává oxidační nebo redukční typ plamene [190][191].

Optický systém vede paprsek záření ze zdroje do monochromátoru, který izoluje záření příslušné vlnové délky. Po výstupu z monochromátoru je záření fokusováno na detektor. Optický systém obsahuje čočky, zrcadla, rotační zrcadlové sektory a polopropustná zrcadla. Čím více je v systému optických prvků, tím jsou ztráty záření větší, což způsobí snížení detekčních limitů. Monochromátor má pomocí vstupní a výstupní štěrbin regulovatelnou šířku spektrálního intervalu (0,2–2 nm), která se volí tak, aby spolu s rezonančním zářením nedopadalo na detektor neabsorbující záření čar blízkých vlnových délek [189].

V AAS se jako detektory nejčastěji používají fotonásobiče, které se zařazují těsně za výstupní štěrbinu monochromátoru. U spektrometrů využívajících laserové diody lze jako detektor použít fotocitlivou diodu. Fotonásobič se skládá z fotocitlivé katody, anody

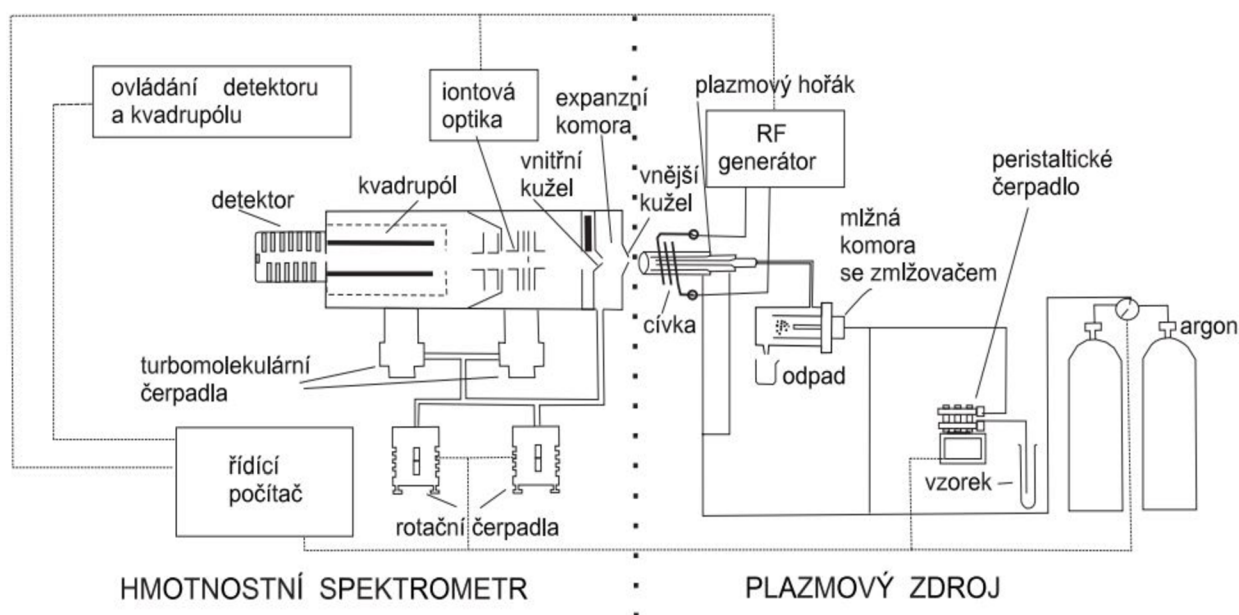
a systému dynod. Dopadem fotonu je z katody vyražen elektron, který je v elektrickém poli urychlen k dynodě. Po dopadu elektronu na dynodu je vyraženo několik sekundárních elektronů, které jsou přitahovány k další dynodě. Tím dochází k zesílení primárního signálu [189].

3.7.2 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je ultrastopová analytická metoda, která slouží ke stanovení obsahu stopových množství jednotlivých prvků v analyzovaném vzorku. Lze s ní analyzovat téměř všechny prvky periodické tabulky s citlivostí 1 ppt – 100 ppm.

3.7.2.1 Princip a instrumentace

ICP-MS je rychlá, více-prvková spektrální analytická metoda umožňující i izotopovou analýzu. Kombinuje indukčně vázané plazma (ICP) jako zdroj nabitých částic a hmotnostní spektrometr (MS), který slouží jako jejich detektor. K analýze se používají převážně kapalné vzorky, které jsou pomocí zmlžovače převedeny na aerosol. Aerosol je poté vysušen, odpařen, atomizován a následně jsou atomy ionizovány. Vzniklé ionty jsou separovány v závislosti na různých poměrech hmotnosti k náboji iontu (m/z). Ionty dopadají na detektor, který převede proud iontů na signál [188]. Účinné odpaření, disociace nebo atomizace, excitace a konečná ionizace složek analyzovaného vzorku probíhá ve vzácných plynech (argon nebo plazma). Po úplné fragmentaci každé molekuly vzorku zůstávají pouze jejich detekovatelné složky (kovy, metaloidy, heteroatomy), které lze použít jako náhrady pro detekci komplexních molekul jako jsou proteiny, nukleové kyseliny nebo malé organické molekuly [192].



Obr. 7: Schéma přístroje ICP-MS [188].

V průběhu měření může docházet k ovlivnění signálu analytu ve vzorku (tzv. spektrálním a nespektrálním interferencím), a tedy jeho systematickým odchylkám od skutečné hodnoty. Spektrální interference jsou způsobeny výskytem částic o stejném poměru m/z (tzv. izobarické překryvy). Nespektrální interference jsou způsobeny vlivy matrice, které mohou ovlivňovat účinnost zmlžování vzorku nebo míru ionizace plazmatu [188].

Do zmlžovače je roztok analyzovaného vzorku přiváděn peristaltickým čerpadlem. Vzniklý jemně dispergovaný aerosol je veden přes mlžnou komoru, kde dojde k oddělení velkých kapek. Proudem argonu jsou do hořáku vedeny pouze kapky o definované velikosti. V hořáku dochází k okamžitému odpaření rozpouštědla a zániku chemických vazeb v molekulách sloučenin a následné atomizaci a ionizaci. Volné atomy vytvoří kladně nabitě ionty, které je možné analyzovat pouze za podmínek vysokého vakua. Ionty jsou unášeny do expanzní komory a následně projdou vzorkovacím (vnější) a tzv. *skimmer* (vnitřní) kuželem. Poté jsou systémem elektromagnetických čoček unášeny do kvadrupólového separátoru. Analyzované ionty jsou kvadrupólem vedeny tak, aby v daném čase na povrch detektoru dopadaly pouze ionty s definovaným poměrem hmotnosti a náboje. Po dopadu iontu na povrch detektoru vzniká slabý elektrický proud, který je zesílen a je změřena jeho intenzita. Schéma přístroje ICP-MS je znázorněno na Obr. 7 [188][193][194].

Aby nedošlo k rušení detekce jednotlivých iontů nenabitými částicemi, je do dráhy iontové optiky (před kvadrupól) umístěna mechanická překážka. Analyzované ionty se elektromagnetickým polem vychýlí a překážku obletí. Elektricky nenabitě atomy (atomy argonu, kyslíku, vodíku a fotony uvolněné z argonového plazmatu) jsou před vstupem do kvadrupólu odstraněny, jelikož jsou elektricky neutrální a elektromagnetické pole je neovlivňuje [195].

3.7.3 UV-VIS spektroskopie

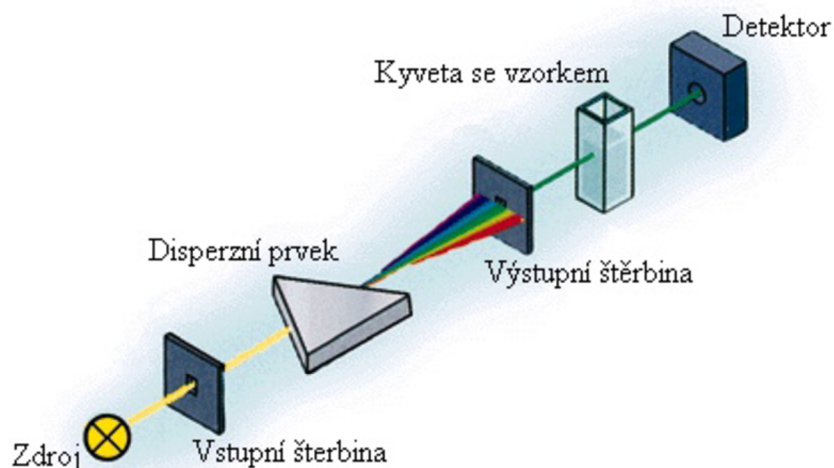
UV-VIS spektroskopie je fyzikálně-chemická metoda, jejímž principem je absorpce elektromagnetického záření z ultrafialové a viditelné oblasti spektra daným vzorkem. Rozsah vlnových délek, při kterých UV-VIS pracuje je 200 až 800 nm. Elektromagnetické záření v této oblasti vlnových délek má dostatečnou energii na excitaci elektronů [196].

3.7.3.1 Princip a instrumentace

Ke změně energetických stavů molekuly dochází při absorpci elektromagnetického záření, které vychází ze zdroje. Absorpce záření způsobí excitaci valenčních elektronů na vyšší energetickou hladinu. Elektromagnetické záření prochází skrz vzorek, zaznamenává se intenzita světelného toku před a po projití vzorkem neboli dopadající a prošlé elektromagnetické záření zdroje. Závislost absorbance na koncentraci je popsána Lambert-Beerovým zákonem:

$$A = \log \frac{\phi}{\phi_0} = \varepsilon \cdot c \cdot L \quad (3)$$

kde ϕ je intenzita prošlého záření, ϕ_0 je intenzita dopadajícího záření, ε je molární extinkční koeficient, L je délka optické dráhy, c je koncentrace a A absorbance [196].



Obr. 8: Schéma instrumentace UV-VIS spektrofotometru.

Zdrojem elektromagnetického záření je halogenová, vodíková, deuteriová nebo xenonová výbojka, každá z nich je schopna generovat záření o jiné vlnové délce. Generované záření dále vstupuje do monochromátoru, který se skládá ze vstupní šterbiny, disperzního prvku a výstupní šterbiny. Monochromátor filtruje z polychromatického záření generovaného výbojkou pouze jednu vlnovou délku. Vstupní šterbina vytváří rovnoběžný svazek paprsků, disperzní prvek (hranol nebo mřížka) rozkládá rovnoběžný svazek paprsků polychromatického záření na paprsky jednotlivých vlnových délek a výstupní šterbina slouží k výběru určité vlnové délky. Odfiltrovaná vlnová délka prochází vzorkem a prošlé záření dopadá na detektor, kde je převedeno na měřitelný elektrický signál, jenž je zpracován a vyhodnocen softwarem v počítači. Jako detektory jsou využívány fotonásobiče, fotodiody, diodová pole nebo CCD prvky (plošně uspořádaný detektor s polovodičovými prvky). Zobrazení instrumentace lze vidět na Obr. 8 [196].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Materiál

4.1.1 Použité chemikálie

Pro přípravu kalibračních roztoků kovů při stanovení rozpustné koncentrace prvků pomocí AAS bylo použito: kadmium (99,99 %, Astasol), chrom (99,99 %, Astasol), měď (99,99 %, Astasol), železo (99,99 %, Astasol), mangan (99,99 %, Astasol), nikl (99,99 %, Astasol), olovo (99,99 %, Astasol), zinek (99,99 %, Astasol), vanad (99,99 %, Astasol) a kobalt (99,99 %, Astasol).

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

Na přípravu standardních roztoků prvků pro stanovení oxidačního potenciálu byl použit: dusičnan olovnatý (p.a., LachNer), hexahydrát chloridu železitého (p.a., Sigma Aldrich), chlorid měďný (99 %, Acros Organics), hexahydrát chloridu chromitého (p.a., Sigma Aldrich), metavanadičnan sodný (99,9 %, Sigma Aldrich), nonahydrát dusičnanu hlinitého (p.a., Lach Ner), hexahydrát chloridu nikelnatého (p.a., Lach Ner), dihydrát chloridu vápenatého (p.a., Lach Ner), heptahydrát síranu zinečnatého (p.a., Lach Ner), tetrahydrát chloridu manganatého (p.a., Lach Ner), pentahydrát síranu měďnatého (p.a., Lach Ner), hexahydrát chloridu kobaltnatého (p.a., Lach Ner), dusičnan barnatý (p.a., Penta), dihydrát chloridu cínatého (p.a., Lach Ner), hexahydrát chloridu strontnatého (99 %, Acros Organics), tetrahydrát dusičnanu kademnatého (98 %, Sigma Aldrich), oxid arsenitý (p.a., Merck) a heptahydrát hydrogenarseničnanu disodného (p.a., Merck), chlorid draselný (99,5 %, Sigma Aldrich), chlorid sodný (99,9 %, Sigma Aldrich), hexahydrát chloridu hořečnatého (99,0 %, Sigma Aldrich), dekahydrát selenanu sodného (98%, Sigma Aldrich), pentahydrát seleničnanu sodného (p.a., Merck), chlorid rtuťnatý (99,5%, VWR Chemicals)

Pro test oxidačního potenciálu dithiothreitem byl použit: DL-Dithiothreitol (>98 %, TCI), 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina (99 %, Acros Organics), Tris(hydroxymethyl)amino-methan (molecular biology grade, Serva), dihydrát disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové (99 %, Sigma Aldrich), dihydrogen fosforečnan draselný (99,5 %, Sigma Aldrich), hydrogen fosforečnan sodný (p.a., Sigma Aldrich) a kyselina trichloroctová (p.a., Penta).

Pro přípravu simulovaných plicních tekutin byl použit: hexahydrát chloridu hořečnatého (99 %, Sigma Aldrich), chlorid sodný (99% %, Fluka Analytical), chlorid draselný (99,5 %, Sigma Aldrich), hydrogen fosforečnan sodný (p.a., Sigma Aldrich), síran sodný (99 %, Sigma Aldrich), dihydrát chloridu vápenatého (99,5 %, Sigma Aldrich), trihydrát octanu sodného (99,5 %, Sigma Aldrich), hydrogen uhličitan sodný (p.a., Sigma Aldrich), dihydrát citrátu sodného (BioUltra, Sigma Aldrich), dihydrogen fosforečnan draselný (99,5 %, Sigma Aldrich), hydroxid sodný (BioUltra, Sigma Aldrich) a 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-fosfatydlcholin (99 %, Larodan AB).

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

Ostatní chemikálie a mineralizační činidla: kyselina dusičná podvarově destilovaná z HNO₃ (p.a., Analytika), peroxid vodíku (anapure, Analytika), zásobní roztok vnitřního standardu *Internal standard mix* (Agilent, Německo) obsahující Li, Ge, Bi, Sc, Y, In, Tb o koncentraci 10 mg·l⁻¹ (byl z něj připraven roztok o koncentraci 100 µg·l⁻¹ ve 2% podvarově destilované kyselině dusičné), zásobní ladící roztok ICP-MS *tuning solution* Li, Mg, Y, Ce, Co a Tl (Agilent, Německo) o koncentraci vybraných prvků 10 mg·l⁻¹ (byl z něj připraven roztok o koncentraci 1 µg·l⁻¹).

4.1.2 Použité přístroje

Mikrovlnný mineralizátor UltraWAVE (MA 149-010, Milestone), čistička traceCLEAN (Milestone, Dánsko), atomový absorpční spektrometr AAnalyst 600 (Perkin Elmer, USA), atomový absorpční spektrometr contraAA 300 (Analytik Jena, Německo), UV-VIS spektrometr DU-520 (Beckman, USA) byly z Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i. a hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS/MS 8800 (Agilent Technologies, Německo) byl z Centra dopravního výzkumu, v. v. i.

4.2 Metody

4.2.1 Vzorkování aerosolů

Odběrovou lokalitou pro vzorky městského aerosolu byl Ústav analytické chemie AV ČR (UIACH) na ulici Veverí v Brně. Odběry se prováděly paralelně s využitím dvou velkoobjemových vzorkovačů (Obr. 9) DHA-80 a DHA-77 (Digitel, Švýcarsko) s průtokem vzduchu 30 m³·h⁻¹ vybavených odběrovými hlavicemi pro vzorkování aerosolové frakce PM_{2,5} nebo PM₁. Vzorkovače byly umístěny na venkovní terase v 1. patře budovy UIACH. Aerosol byl zachytáván na nitrátcelulósový membránový filtr (průměr 150 nm, porozita 3 µm, Sartorius, Německo) po dobu 48 hodin. Celkem bylo odebráno 56 vzorků městského aerosolu (28 vzorků PM_{2.5} a 28 vzorků PM₁) během čtyř dvoutýdenních kampaní (únor/březen, duben/květen, červenec a listopad) v průběhu roku 2018. Při vzorkování bylo paralelně prováděno měření aktuální teploty a vlhkosti s využitím komerčních senzorů (T3113, Comet System, ČR).

4.2.2 Hmotnostní koncentrace PM

Nitrátcelulósové filtry byly vždy před a po vzorkování ekvilibrovány po dobu 48 hodin v čisté klimatizované místnosti za konstantní teploty 21 °C (±0,5 °C) a relativní vlhkosti 50 % (±2 %). Po ekvilibraci byly filtry zváženy na analytických mikrováhách značky M5P (±1 µg,

Sartorius, Německo), které jsou vybaveny speciálním nástavcem pro vážení 150 mm filtrů. Po zvažení celého filtru byl každý filtr rozdělen keramickým nožem na čtvrtiny a každá část byla zvážena zvlášť. Čtvrtiny filtrů byly před analýzou skladovány v Petriho miskách v lednici při 4 °C.



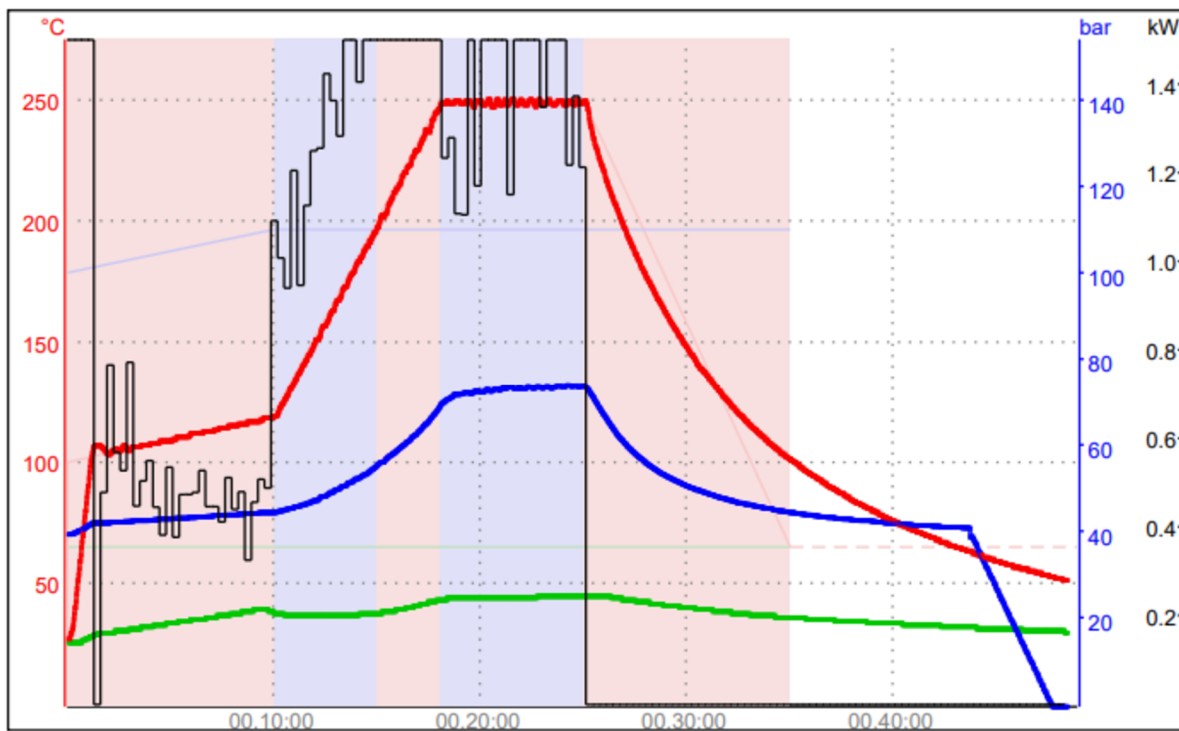
Obr. 9: Velkoobjemové vzorkovače a exponované filtry.

4.2.3 Rozklad vzorků

Jedna čtvrtina každého filtru byla rozložena ve 3 ml koncentrované kyseliny dusičné s využitím mikrovlnného mineralizátoru UltraWAVE (MA 149-010, Milestone). Parametry rozkladného procesu (Tab. 1) byly před rozkladem reálných vzorků optimalizovány pomocí čistých a testovacích filtrů. Na záznamu termické křivky mineralizace (Obr. 10) je patrný teplotní nárůst okolo 100 °C způsobený exotermní reakcí během rozkladu. Rozložené filtry byly kvantitativně převedeny do polyetylenových scintilačních lahvíček (Kartel, Itálie) spolu se 7 ml deionizované vody. Rozklad filtrů probíhal v čisté laboratoři s HEPA filtry, aby se v co nejvyšší možné míře zabránilo kontaminaci vzorku. Skleněné zkumavky s teflonovými zátkami použité při rozkladech byly čištěny v parách HNO₃ (čistička traceCLEAN) po dobu nejméně 12 hodin, následně byly louhovány v deionizované vodě a usušeny.

Tab. 1: Program rozkladu filtrů.

Krok	Délka (min)	Výkon (W)	Teplota (°C)	Tlak (bar)
Počáteční hodnoty		0	25	40
1	10	1500	120	110
2	5	1500	200	110
3	10	1500	250	110
4	10	0	65	110



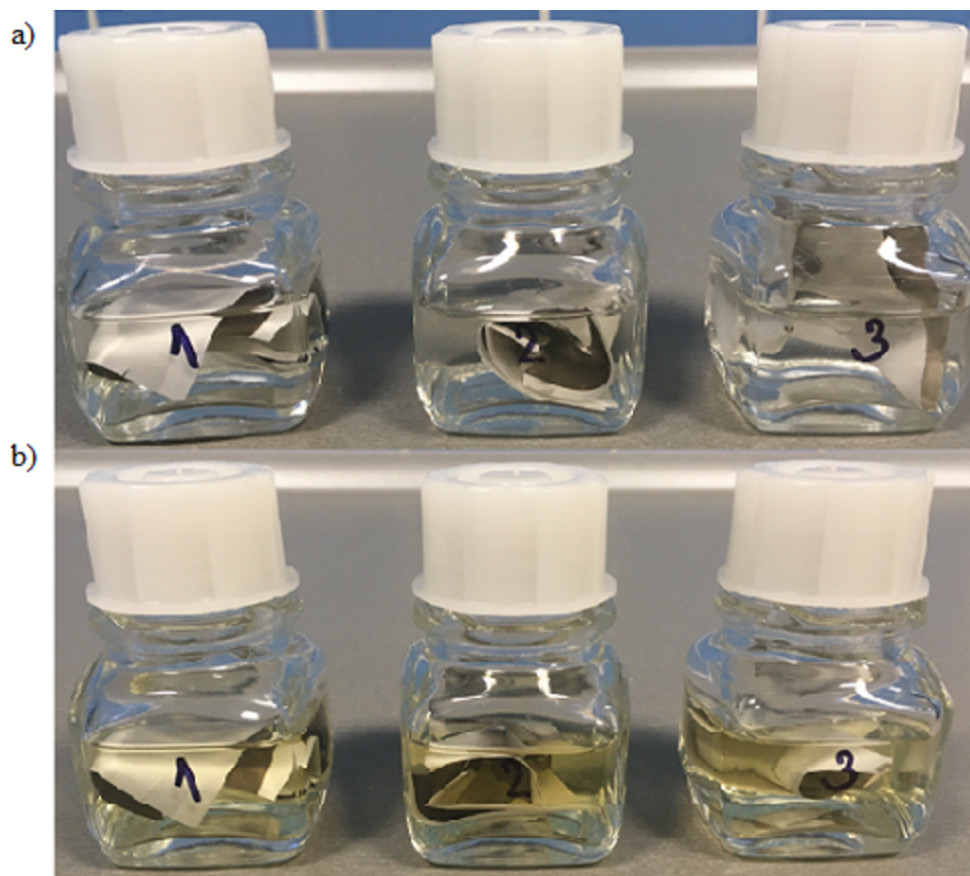
Obr. 10: Záznam termické křivky mineralizace.

4.2.4 Extrakce filtrů s SLF

Zbývající čtvrtiny každého filtru byly extrahovány ve třech simulovaných plicních tekutinách: deionizovaná voda (DW), Gambův roztok (GS) a Simulovaná tekutina plicního sklípku (SAF). K přípravě všech SLF, jejichž složení je uvedeno v Tab. 2, byla použita deionizovaná voda s vodivostí $0,055 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (Ultra Clear UV Plus TM, Evoqua Water Technologies, Německo). $1/4$ filtru byla extrahována po dobu 24 hodin ve 30 ml příslušné SLF ve skleněných lahvičkách umístěných na třepačce v termostatickém boxu při teplotě 37°C . Po ukončení extrakce byly vzorky přefiltrovány přes polyethersulfonový injekční filtr (LUT Syringe Filters PES, 25 mm, $0,45 \mu\text{m}$, Labstore) do polyetylenových scintilačních lahviček (Kartel, Itálie). Získané extrakty byly použity pro analýzu biodostupné frakce rozpustných prvků a stanovení oxidativního potenciálu. Pro stanovení biodostupné frakce bylo do roztoku po extrakci přidáno $250 \mu\text{l HNO}_3$ pro stabilizaci prvků.

Tab. 2: Složení simulovaných plicních tekutin.

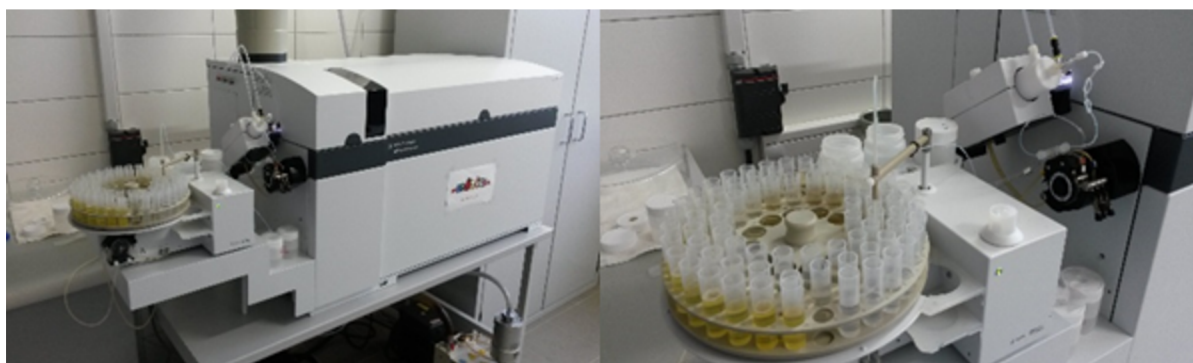
Simulovaná plicní tekutina	Složení na 1 litr
Gamblův roztok (GS)	0,2033 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 6,0193 g NaCl 0,2982 g KCl 0,142 g Na_2HPO_4 0,071 g Na_2SO_4 0,3676 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,9526 g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 2,6043 g NaHCO_3 0,097 g dihydrátu citrátu sodného
Simulovaná tekutina plicního sklípku (SAF)	0,2205 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 ml Clark-Lubs pufru při $\text{pH} = 7,4$ (6,808 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ KH_2PO_4 + 1,574 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH) 0,1 g 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-fosfatidylcholin
Deionizovaná voda (DW)	



Obr. 11: Foto vzorků před (a) a po (b) extrakci do Gamblova roztoku.

4.2.5 Stanovení celkových koncentrací prvků na ICP-MS

Ke stanovení koncentrací analyzovaných prvků byl použit přístroj ICP-MS/MS Spektrometr 8800 Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Německo), se dvěma kvadrupóly Q1 a Q2 a oktopólovou reakční celou (OCR). Přístroj kombinuje vysoké teploty zdroje indukčně vázaného plazmatu s hmotnostním spektrometrem. Zdroj ICP převede proudem argonu atomy prvků ve vzorku na ionty, které jsou následně separovány a detekovány pomocí hmotnostního spektrometru (Agilent Technologies, 2014).



Obr. 12: Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS/MS 8800.

Vzorek se při analýze nasává vzorkovací hadičkou (1,02 mm ID) z autosampleru peristaltickou pumpou do zmlžovače (MicroMist nebulizer – koncentrický zmlžovač Mainhardova typu z borosilikátového skla) společně s roztokem interního standardu (hadička pro interní standard 0,25 mm ID), kde v křemenné mlžné komoře, chlazené Peltierovým článkem, vzniká jemný aerosol, který se dále odvádí nosným plynem (argon) do křemenné plazmové hlavice (2,5 mm ID). Tam dochází k desolvataci, atomizaci a ionizaci vzorku. Přes rozhraní (interface) plazma/hmotnostní spektrometr (vakuum) tvořené dvěma konusy (platinové Pt) a částí iontové optiky (extrakční čočky) putují ionty do prvního kvadrupólu. V prvním kvadrupólu a v kolizně reakční cele (OCR – *octopole reaction cell*) dochází k odstranění interferentů a vyselektování hledaných iontů působením kolizního (He) nebo reakčního plynů (O_2 , NH_3 , H_2). V koncovém kvadrupólovém analyzátoru dochází k propuštění iontů na základě poměru hmoty a náboje. Prošlé ionty se následně detekují detektorem (elektronový násobič – *Electron multiplier*) s dynamickým rozsahem 9 řádů.

Vyhodnocení výsledků se provádí s využitím programu Excel, kam se výsledky vyexportují z měřicího softwaru *MassHunter*. Mez detekce se počítá jako součet odezvy slepého vzorku a trojnásobku odhadu směrodatné odchylky. Mez kvantifikace se počítá jako součet odezvy slepého vzorku a desetinásobku odhadu směrodatné odchylky.

Měření většiny prvků probíhá v klasickém *singlequad* módu, s kolizním plynem He. V tomto uspořádání jsou analyzovány tyto prvky: ^{23}Na , ^{24}Mg , ^{39}K , ^{43}Ca , ^{27}Al , ^{55}Mn , ^{51}V , ^{53}Cr , ^{59}Co , ^{60}Ni , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{118}Sn , ^{137}Ba , ^{205}Tl , ^{208}Pb , ^{121}Sb , ^{78}Sr , ^{95}Mo . Pro stanovení vybraných prvků $^{56-72}Fe$, $^{75-91}As$, $^{78-94}Se$, $^{47-63}Ti$ je využíván reakční kyslíkový mód pracující v MS/MS *mass shift* módu (prvek je analyzován na hmotě produktu, tedy X+O). Pro stanovení $^{111-111}Cd$ je využíván reakční mód NH_3/He pracující v MS/MS *on mass* módu (měření probíhá na hmotě prvku, s reakčním plynem reagují interferenty).

4.2.5.1 Nastavení přístroje pro analýzu všech vzorků

Výkon generátoru indukčně vázaného plazmatu (RF power): 1 550 W, průtok nosného plynu Ar 1,071·min⁻¹, průtoky ostatních plynů: kolizní plyn He 4 ml·min⁻¹, reakční plyn amoniak/helium 4 ml·min⁻¹ NH₃ + 1 ml·min⁻¹ He, reakční plyn kyslík 0,29 ml·min⁻¹, integrační čas pro každý izotop 0,3 s.

Tab. 3: Typické hodnoty parametrů ladění pro jednotlivé měřicí módy.

	No gas mód	He kolizní mód	O ₂ reakční mód	NH ₃ reakční mód
tlak analyzátoru	3,13·10 ⁻⁴ Pa	1,22·10 ⁻³ Pa	8,24·10 ⁻⁴ Pa	2,17·10 ⁻³ Pa
Tl (cps)	13533	11832	4507	7292
Y (cps)	24298	3798	-	-
Li (cps)	5216	-	-	-
Co (cps)	-	3603	-	-
⁷⁵ CoO (cps)	-	-	1470	-
¹⁰⁵ YO (cps)	-	-	8936	-
⁹³ Co(NH ₃) ₂ (cps)	-	-	-	1171
¹⁵⁶ CeO ⁺ / ¹⁴⁰ Ce ⁺	1,03 %	0,267 %	-	-
⁷⁰ Ce ⁺ / ¹⁴⁰ Ce ⁺⁺	2,75 %	0,283 %	-	-

Ladění přístroje se provádí před každým měřením s využitím komerčně dostupného ladícího roztoku obsahujícího ⁷Li, ⁵⁹Co, ⁸⁹Y a ²⁰⁵Tl (Agilent). Intenzita (count za sekundu/mikrogram na litr (CPS/μg·l⁻¹)) a průměrné RSD signálu ladících prvků ⁷Li, ⁵⁹Co, ⁸⁹Y a ²⁰⁵Tl byly sledovány současně s poměry oxidů (¹⁵⁶CeO⁺/¹⁴⁰Ce⁺) a poměrem dvojitě nabitých iontů (⁷⁰Ce⁺/¹⁴⁰Ce⁺⁺) (Tab. 3). Ladění je vždy prováděno tak, aby bylo dosaženo uspokojivé citlivosti a robustnosti metody. Poměr CeO/Ce se v ICP-MS užívá k hodnocení robustnosti plazmatu. Nižší poměr CeO/Ce poukazuje na účinnější rozklad polyatomických interferencí oxidů, které pocházejí z matrice vzorku. To umožňuje analýzu i variabilních vzorků.

Kalibrace makroprvků (Na, K, Mg, Ca, Fe, Mn, Al) byla v rozsahu 0–10 mg/l, kalibrace ostatních prvků (V, Cr, Cd, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ti, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb) v rozsahu 0–100 μg/l. Linearita kalibračních křivek pro jednotlivé prvky je popsána v Tab. 4. Při analýze vzorků v plicních tekutinách byly do kalibračních roztoků přidány podíly zásobních roztoků plicních tekutin. (Gamble, SAF, vždy 50 μl). Koncentrace jednotlivých kalibračních roztoků byly zvoleny tak, aby pokryly široké rozmezí předpokládaných koncentrací z důvodu neznámých koncentrací jednotlivých prvků ve vzorcích.

Tab. 4: Koeficient determinace kalibračních křivek pro celkové koncentrace jednotlivých prvků.

Al	As	Ba	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg
1,0000	0,9995	0,9998	0,9999	0,9997	0,9999	0,9999	1,0000	0,9994	1,0000	1,0000
Mn	Na	Ni	Pb	Sb	Se	Sn	Ti	V	Zn	
1,0000	1,0000	1,0000	0,9998	0,9998	1,0000	0,9998	1,0000	0,9999	1,0000	

Všechny kalibrační roztoky a roztoky vzorků, certifikovaných materiálů a blanku byly přeneseny do plastových nádobek – vialek o objemu 5 ml (Kartel), které byly umístěny do autosampleru. Po spuštění přístroje a nastavení vhodných metod měření (nastavení parametrů přístroje vychází z doporučení výrobce a metody jsou laboratoří zoptimalizovány a standardně zavedeny do analytického systému) byly nejprve provedeny kalibrace jednotlivých prvků a pak analýza vzorků. Měření probíhalo podle příslušného návodu k použití přístroje a dle doporučení výrobce. Výsledky neznámých obsahů prvků ve vzorku byly měřeny a vyhodnoceny metodou kalibrační křivky s vnitřním porovnávacím standardem: ^{45}Sc (pro ^{23}Na , ^{24}Mg , ^{39}K , ^{43}Ca , ^{27}Al), ^{74}Ge (pro ^{55}Mn , ^{51}V , ^{53}Cr , ^{59}Co , ^{60}Ni , ^{63}Cu , ^{66}Zn), ^{209}Bi (pro ^{118}Sn , ^{137}Ba), ^{159}Tb (pro ^{208}Pb , ^{121}Sb), $^{115-115}\text{In}$ nebo $^{74-74}\text{Ge}$ (pro $^{56-72}\text{Fe}$, $^{75-91}\text{As}$, $^{78-94}\text{Se}$, $^{47-63}\text{Ti}$), ^{115}In (pro $^{111-111}\text{Cd}$).

4.2.6 Stanovení biodostupné frakce prvků

Kvůli nedostatku standardizovaných metod pro stanovení biodostupnosti prvků v PM frakcích byl objem SLF, do které byly vzorky PM extrahovány, předběžnými experimenty stanoven na 30 ml jako kompromis mezi dostatečným objemem vzorku pro analýzu, použitím co nejmenšího objemu tekutiny k získání koncentrovaného vzorku a zajištěním kontaktu mezi filtrem s SLF. Dalším důležitým faktorem při stanovení objemu extrakční SLF bylo dodržení fázového poměru pevné/kapalně fáze mezi 1/500–1/50 000, aby bylo zajištěno, že tento poměr neovlivní biodostupnost prvků [197].

Po odebrání alikvotního podílu vzorku pro DTT test bylo k roztoku přidáno 250 μl koncentrované HNO_3 . Vzorky byly do analýzy uchovávány v lednici při 4 °C. Koncentrace rozpustné frakce prvků byly měřeny metodami atomové absorpční spektrometrie (AAS) pro DW a SAF a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) pro GS.

Procentuální biodostupnost každého prvku byla vypočítána pomocí rovnice:

$$\text{biodostupnost (\%)} = \frac{c_{\text{bio}}}{c_{\text{t}}} \times 100 \quad (4)$$

kde c_{bio} je koncentrace rozpustné frakce prvku v SLF ($\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$) a c_{t} je celková koncentrace prvků ($\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$) v částicích aerosolu.

4.2.6.1 Stanovení koncentrace rozpustné frakce prvků pomocí ICP-MS

Postupy a nastavení přístroje pro měření koncentrace rozpustné frakce prvků jsou téměř totožné s těmi použitými při měření celkových koncentrací, které jsou popsány výše.

Při analýze vzorků plicních tekutin bylo využito pro kontinuální ředění těchto vzorků systému HMI (*High Matrix Introduction*). HMI přidává přesně řízený a kalibrovaný plynný argon pro zředění proudu vzorku ve fázi aerosolu a podle nastavení je možné zředit aerosol až 8 \times (využito v tomto případě). Při navýšení průtoku ředícího plynu dojde automaticky ke snížení průtoku nosného plynu ve zmlžovači tak, aby výsledný průtok nosného plynu do plazmatu byl konstantní. Tento ředící plyn snižuje hustotu aerosolu a zmenšuje kapičky. To vede k dosažení vyšší teploty plazmatu, lepšímu rozkladu matrice, nižším oxidům i dalším

interferencím, tedy ke zvýšení robustnosti plazmatu a také méně časté údržbě [198]. Lze analyzovat vzorky až se 2 % rozpuštěných solí.

4.2.6.2 Stanovení koncentrace rozpustné frakce prvků pomocí AAS

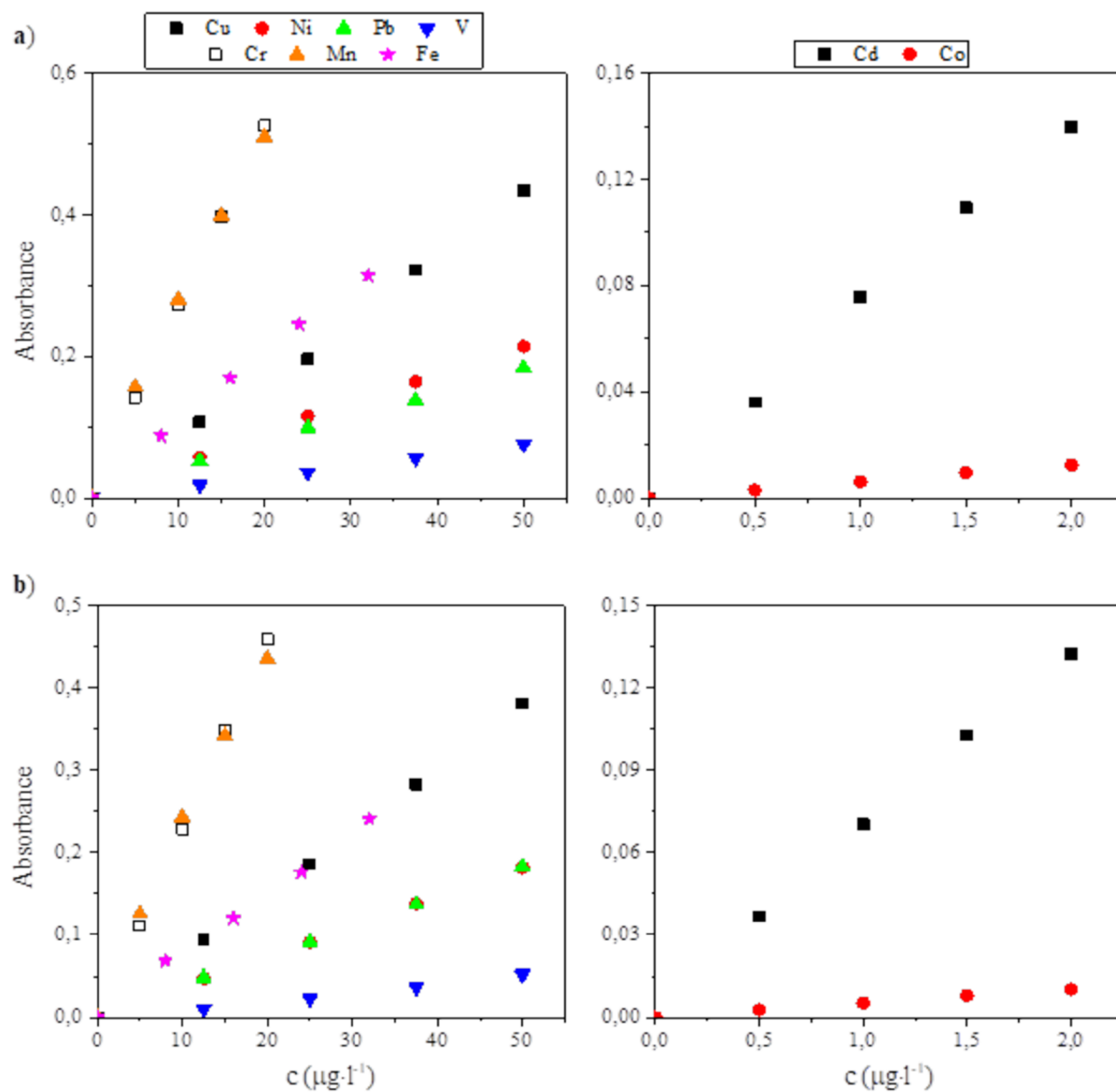
Stanovení biodostupné frakce prvků bylo nejdříve optimalizováno na vzorcích městského aerosolu, které byly navzorkovány mimo kampaně. Při optimalizaci bylo zjištěno, že pro stanovení biodostupnosti prvků v Gamblově roztoku nelze použít AAS, protože některé složky Gamblova roztoku způsobovaly interference a ničily grafitovou kyvetu. Z tohoto důvodu byla biodostupnost všech prvků v Gamblově roztoku stanovována pomocí ICP-MS. Biodostupnost 10 z 21 prvků v deionizované vodě a 10 z 18 prvků SLF bylo možné stanovit pomocí atomové spektrometrie.

Atomová absorpční spektroskopie byla použita pro stanovení Cu, Mn, V, Ni, Cd, Co, Cr, Fe a Pb v deionizované vodě a SAF (Tab. 5), přičemž byly roztoky pro stanovení Fe zředěny 20krát. Pro každý prvek byly provedeny tři měření téhož vzorku. Bylo dávkováno 20 μl vzorku a případně 10 μl modifikátoru matrice. Po nástřiku bylo ze vzorku odpařeno rozpouštědlo (110 $^{\circ}\text{C}$). Teploty pyrolýzy a atomizace jsou uvedeny v Tab. 5, čištění grafitové kyvety probíhalo při teplotě 2450 $^{\circ}\text{C}$. Zinek v deionizované vodě a SAF byl měřen na přístroji contrAA 300 (Analytik Jena, Německo) kvůli jeho vysokým koncentracím. Zinek byl stanovován při vlnové délce 213 nm, výšce hořáku 6 mm, průtoku $\text{C}_2\text{H}_2/\text{vzduch}$ 45 $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$ a 1 pixelu integrace. Ostatní prvky byly kvůli příliš vysokým (Al, Ca, K a Na) nebo nízkým koncentracím změřeny na ICP-MS (As, Ba, Mg, Sb, Se, Sn a Ti).

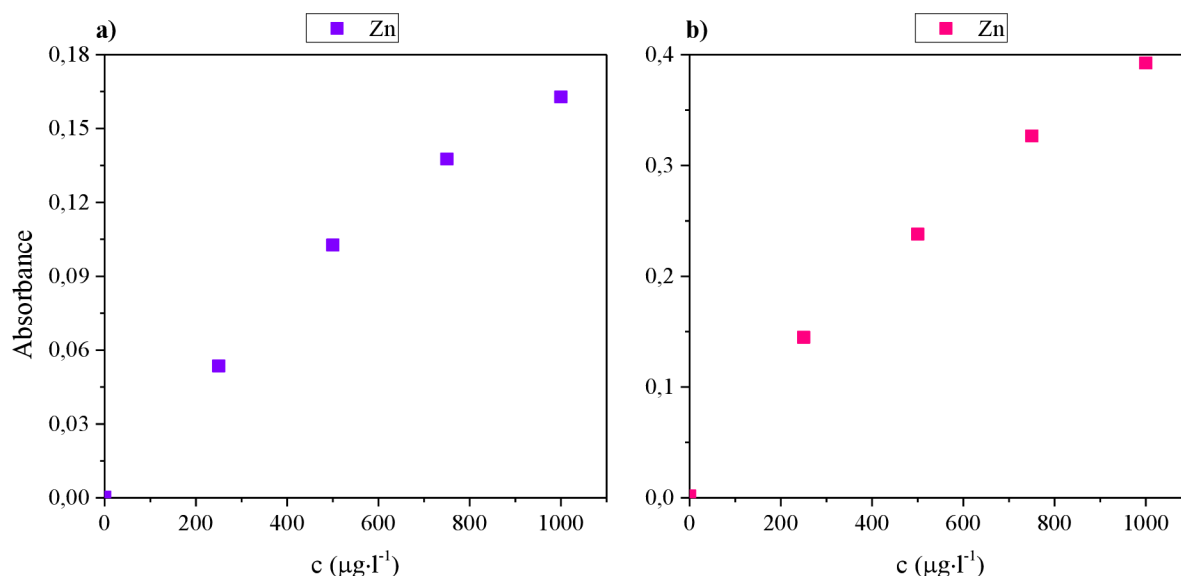
Tab. 5: Nastavení atomového absorpčního spektrometru.

prvek	vlnová délka [nm]	modifikátor matrice	pyrolýza [$^{\circ}\text{C}$]	atomizace [$^{\circ}\text{C}$]	operační proud [mA]	integrační čas [s]
Cd	228,8	$\text{H}_3\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	500	1600	4	3
Co	242,5	-	900	2300	30	5
Cr	357,9	-	900	2300	25	5
Cu	324,8	-	900	2200	15	5
Fe	248,3	-	900	2200	30	3
Mn	279,5	-	900	1900	20	4
Ni	232,0	-	900	2300	40	5
Pb	283,3	$\text{H}_3\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	800	1600	10	3
V	318,4	-	900	2300	40	5

Pro sestavení kalibrační přímky (Obr. 13, Obr. 14) byly připraveny standardní roztoky zvlášť pro deionizovanou vodu a SAF pomocí certifikovaných kalibračních materiálů pro AAS. Koncentrace kovů byla vypočtena ze získaných regresních rovnic (Tab. 6) kalibrační závislosti absorbance na koncentraci. Výsledné množství kovů obsažených ve vzorku bylo přepočteno na množství daného kovu ve vzduchu a jsou uvedeny v $\text{ng}\cdot\text{m}^3$.



Obr. 13: Kalibrační grafy kovů pro a) deionizovanou vodu a b) SAF.



Obr. 14: Kalibrační grafy zinku pro a) deionizovanou vodu a b) SAF.

Tab. 6: Hodnoty regresní rovnice a koeficientu determinace kalibračních křivek, limity detekce (LOD, $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$) a limity kvantifikace (LOQ, $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$) prvků v deionizované vodě a simulované tekutině plicních sklípků (SAF).

prvek	deionizovaná voda				SAF			
	lineární regrese	R ²	LOD	LOQ	lineární regrese	R ²	LOD	LOQ
Cd	$y = 0,0716x$	0,9992	0,0011	0,0037	$y = 0,0677x$	0,9993	0,0041	0,0137
Co	$y = 0,0063x$	0,9996	0,0017	0,0058	$y = 0,0052x$	0,9999	0,0022	0,0073
Cr	$y = 0,0266x$	0,9997	0,0015	0,0051	$y = 0,023x$	0,9999	0,0081	0,0272
Cu	$y = 0,0085x$	0,9990	0,0127	0,0423	$y = 0,0076x$	0,9999	0,0290	0,0967
Fe	$y = 0,0101x$	0,9990	0,0625	0,2083	$y = 0,0075x$	0,9993	0,0299	0,0997
Mn	$y = 0,0264x$	0,9976	0,0066	0,0148	$y = 0,0225x$	0,9981	0,0241	0,0803
Ni	$y = 0,0044x$	0,9994	0,0170	0,0568	$y = 0,0037x$	0,9999	0,0181	0,0640
Pb	$y = 0,0037x$	0,9989	0,0094	0,0314	$y = 0,0037x$	0,9999	0,0043	0,0143
V	$y = 0,0015x$	0,9997	0,0078	0,0259	$y = 0,0012x$	0,9982	0,0075	0,0250
Zn	$y = 0,0002x$	0,9913	0,2505	0,8348	$y = 0,0005x$	0,9913	0,1768	0,5894

4.2.7 Obohacovací faktor

Obohacovací faktor (*Enrichment Factor*, EF) prvků, který se používá pro určení přírodního nebo antropogenního původu prvku, je založený na porovnání koncentrace vybraných prvků s koncentrací referenčního prvku v zemské kůře. Jako referenční prvky se používají prvky, které jsou v zemské kůře velmi stabilní. Typickými referenčními prvky jsou Al, Fe, Mn a Ce [139][199][200][201].

Pro účely této studie bylo jako referenční prvek zvoleno železo. Obohacovací faktor prvku se vypočítá pomocí rovnice:

$$EF_x = (X/Y)_{\text{aerosol}} / (X/Y)_{\text{crust}} \quad (5)$$

kde $(X/Y)_{\text{aerosol}}$ jsou koncentrace zkoumaného (X) a referenčního prvku (Y) ve vzorcích a $(X/Y)_{\text{crust}}$ jsou průměrné koncentrace zkoumaného a referenčního prvku v zemské kůře.

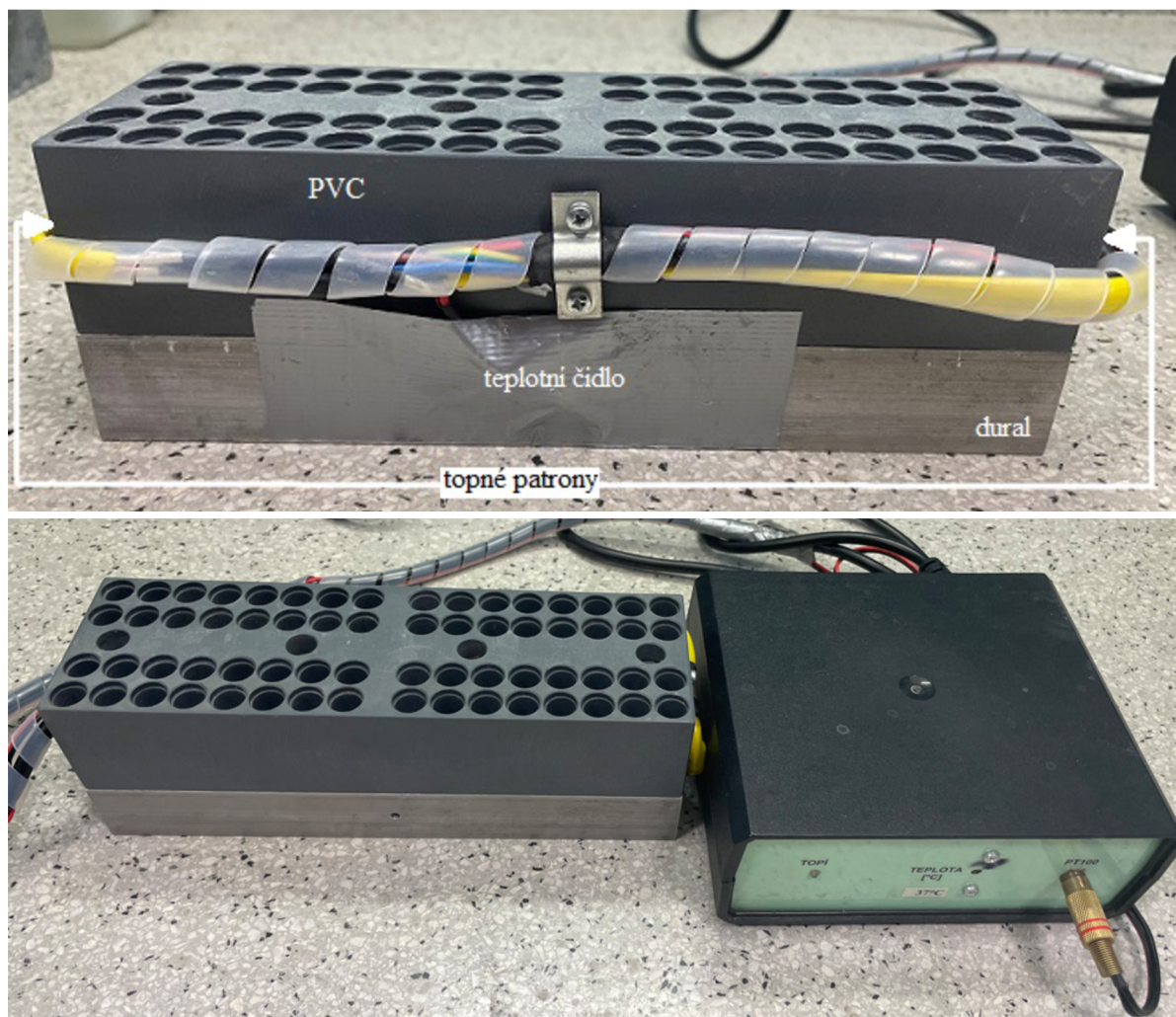
4.2.8 Pozitivní maticová faktorizace (*Positive Matrix Factorization, PMF*)

Pro identifikace zdrojů aerosolu a vázaných sloučenin jsou používány různé metody receptorového modelování, např. pozitivní maticová faktorizace a analýza hlavních komponent [202][203][204][205]. Model PMF byl využit k získání bližších informací o zdrojích prvků a jejich příspěvku k elementárnímu složení vzorků PM1 a PM2,5 frakce městského aerosolu. Datová matice byla připravena v souladu s postupem popsáným Polissar a kol. (1998) [206]. Již dříve byl model PMF úspěšně aplikovaný na datové soubory obsahující omezený počet vzorků [207][208][209]. Relativní analytická nejistota se pohybovala mezi 5–20 %. Finální matice zahrnovaly 28 vzorků a 20 prvků jako celkovou proměnnou a byly modelovány pro každou velikostní frakci aerosolu zvlášť. Model byl spuštěn několikrát s použitím odlišného počtu faktorů a různých nejistot modelování, aby byl získán fyzikálně nejvýznamnější výsledek a nejlepší diagnostika.

4.2.9 Stanovení oxidativního potenciálu testem DTT

Roztok DTT (1 mM) byl připraven ve fosfátovém pufru při pH 7,4. Pro stanovení oxidativního potenciálu pomocí DTT testu bylo 0,9 ml vzorku inkubováno při teplotě 37 °C na třepačce s 0,1 ml roztoku DTT. Ve zvolených časech (7, 15, 30, 45, 60 a 90 minut) byl ke vzorku přidán 1 ml 10% kyseliny trichloroctové, který zastavil oxidaci DTT. Úbytek DTT byl měřen po přidavku 25 µl 10 mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoové kyseliny (DTNB) a 1 ml 0,4 M Tris-HCl (pH = 8,9) obsahující 20 mM EDTA pomocí UV-VIS spektrometru (DU 250, Beckman) při vlnové délce 412 nm. Rychlost úbytku DTT ($\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$) je přímo úměrná schopnosti redox-aktivních složek PM přítomných ve vzorku generovat ROS, což je definováno jako oxidativní potenciál.

Před analýzou reálných vzorků byl postup měření optimalizován na standardech jednotlivých prvků a vzorcích městského aerosolu. Vzhledem k citlivosti DTT na světlo bylo pro účely inkubace vzorku s DTT sestrojeno speciální zařízení (Obr. 15). Vrchní část zařízení je tvořena PVC a spodní část durallem. V duralovém bloku (délka: 22,5 cm, šířka: 7 cm, výška: 7,5 cm) byly vyvrtány dva podélné otvory, do kterých byly umístěny topné patry s vnitřním napojením vývodu (průměr 10 mm, délka 80 mm, příkon 300 W/230 V, Backer ELTOP) pro zahřívání reakční směsi na teplotu 37 °C. Teplota výhřevu byla udržována na konstantní teplotě pomocí teplotního čidla PT100. Svislé otvory v PVC zasahují až do spodního duralu a slouží k uchycení zkumavek se vzorky a jejich inkubaci na teplotu 37 °C.



Obr. 15: Zařízení pro inkubaci vzorků při DTT testu.

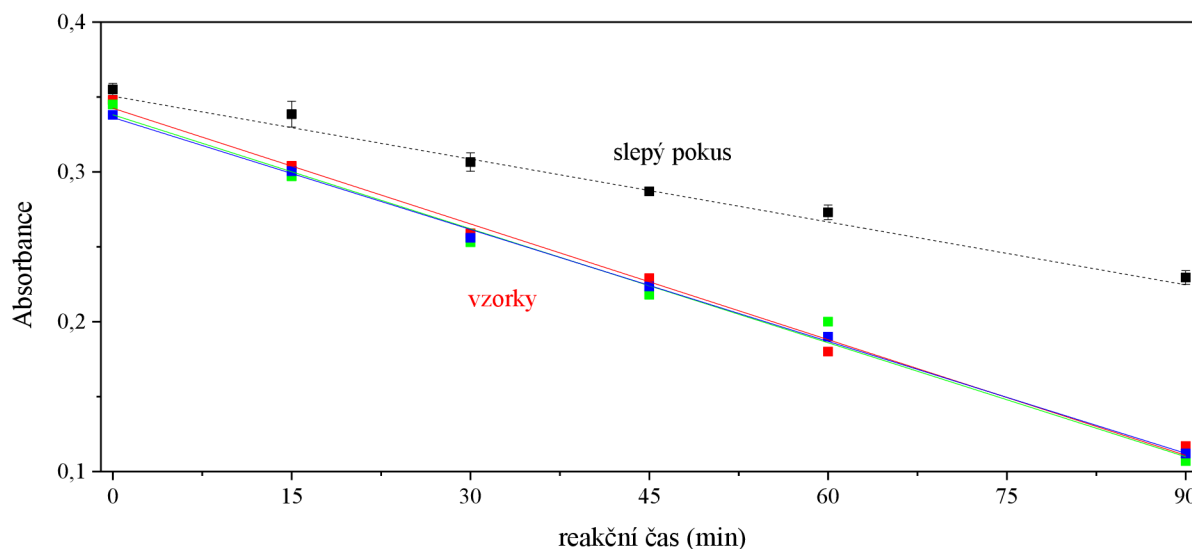
4.2.9.1 Stanovení oxidačního potenciálu standardních roztoků prvků

Pomocí údajů v literatuře byla pro stanovení oxidačního potenciálu nejprve vybrána skupina studovaných kovů (Cu, Mn, Co, V, Ni, Pb, Fe, Cr, Zn, Cd), které mají potenciál tvořit ROS [72]. Kromě výše zmíněných kovů byly pro změření později vybrány i další prvky a kovy, které se běžně vyskytují v atmosférickém aerosolu (As, Al, Ba, Ca, K, Mg, Na, Sn, Se, Sr, Ti, Hg). Pro tyto prvky byly provedeny série měření reakce DTT se standardními roztoky.

Roztoky byly vždy připraveny v den experimentu v rozmezí koncentrací 0,03–3 μM (každá koncentrace byla vždy připravena 3krát) v příslušné SLF. Postup experimentu je téměř totožný s výše popsaným postupem. Rozdíl byl pouze v době inkubace vzorku s DTT, kdy u standardních roztoků byla kyselina trichloroctová přidána v jiných časech (15, 30, 45, 60 a 90 minut), jelikož úbytek DTT u standardních roztoků byl pozvolnější než u reálných vzorků.

Rychlost úbytku DTT byla stanovena z lineární regrese absorbance měřené v závislosti na čase, jak je znázorněno na Obr. 16. Slepý pokus se skládal ze 100 μM DTT v příslušné SLF bez přidání redox-aktivních prvků, každý zobrazený bod je průměrem ze tří jednotlivých měření. Rychlost úbytku DTT byla v každém vzorku vypočítána ze směrnice lineární regrese

a korigována odečtením hodnoty ze slepého pokusu. Průměr a standardní odchylky míry úbytku DTT byly poté vypočítány z opakovaných měření.



Obr. 16: Ukázka neupravených DTT dat. Rychlost úbytku DTT vzorku byla stanovena pomocí regresních přímek vzorku a slepého pokusu.

4.2.9.2 Stanovení oxidativního potenciálu reálných vzorků

Po filtraci roztoků extrahovaných filtrů a před přidáním koncentrované HNO_3 bylo z každého vzorku odebráno 3krát 0,9 ml pro každý čas, který byl následně použit pro měření oxidativního potenciálu metodou DTT popsanou výše. Rychlost úbytku DTT byla stejně jako pro standardní roztoky vypočítána ze sklonu lineární regrese a korigována odečtením hodnoty ze slepého pokusu. Při analýze reálných vzorků byla pro slepý pokus použita extrakce neexponovaného filtru v dané SLF. Průměrná rychlost úbytku DTT pro daný čas z neexponovaných filtrů byla odečtena od výsledků získaných pro reálné vzorky PM.

Finální výsledky OP_{DTT} jsou prezentovány jako rychlost úbytku DTT normalizované na objem vzorkovaného vzduchu, který prošel filtrem ($\text{OP}_{\text{V}}^{\text{DTT}}$; $\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$) nebo jako rychlost úbytku DTT normalizované na hmotnost částic ($\text{OP}_{\text{m}}^{\text{DTT}}$; $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$). Výpočty normalizované rychlosti úbytku DTT jsou založeny na rovnicích (6) a (7).

$$\text{OP}_{\text{V}}^{\text{DTT}} = \frac{\Delta \text{DTT}}{V} \quad (6)$$

$$\text{OP}_{\text{m}}^{\text{DTT}} = \frac{\Delta \text{DTT}}{m_{\text{PM}}} \quad (7)$$

kde ΔDTT je rychlost úbytku DTT ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1}$) v roztoku po korelaci slepým pokusem, V je objem prosátého vzduchu přes filtr (m^3) a m_{PM} je hmotnost PM1 a PM2,5 částic zachycených na filtru (g).

4.2.10 Zhodnocení zdravotních rizik

Americká agentura pro ochranu životního prostředí (US EPA) vyvinula model zhodnocení karcinogenních a nekarcinogenních rizik vzniklých expozicemi částicím aerosolu. Pro tuto práci byla použita pouze expozice přímou inhalací atmosférických částic nosem a ústy.

Podle příručky pro hodnocení lidského zdraví (část A) a doplňujících pokynů pro zhodnocení inhalačních rizik (část F) [210] byly vypočítány expoziční koncentrace (EC). Tyto údaje slouží k určení rizik (riziko rakoviny, index nebezpečnosti), které představují prvky v PM1 a PM2,5 při vdechování PM. Výpočet expoziční koncentrace látky je založen na rovnici (8) [211][212].

$$EC = C_{95\%} \times \frac{EF_{ZR} \times ET \times ED}{AT} \quad (8)$$

kde $C_{95\%}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) je horní mez spolehlivosti aritmetického průměru koncentrace kovu (celkové i biodostupné) v PM2,5 a PM1, ET ($\text{h}\cdot\text{den}^{-1}$) je doba expozice, EF_{ZR} ($\text{dní}\cdot\text{rok}^{-1}$) je frekvence expozice, ED (roky) je trvání expozice, AT (dny) je doba, na kterou je expozice průměrována (pro karcinogenní $AT_c = 70 \text{ let} \times 365 \text{ dní} \times 24 \text{ hodiny}$; pro nekarcinogenní: $AT_n = ED \times 365 \text{ dní} \times 24 \text{ hodin}$). Údaje použité v rovnici (8) jsou popsány v Tab. 7.

Tab. 7: Seznam hodnot použitých k výpočtu expoziční koncentrace.

Parametr	Akronym	Jednotka	Dítě	Dospělý
Frekvence expozice	EF_{ZR}	$\text{dní}\cdot\text{rok}^{-1}$	365	365
Trvání expozice	ED	roky	6	30
Doba expozice	ET	$\text{hodin}\cdot\text{den}^{-1}$	24	24
Průměrná expozice	AT_c	hodiny	613 200	613 200
	AT_n		52 560	262 800

Riziko rakoviny (CR) je popsáno jako možnost výskytu nádorových onemocnění v důsledku působení karcinogenních sloučenin. Podle údajů uváděných organizací US EPA: pokud jsou hodnoty $CR < 1 \cdot 10^{-6}$, riziko vzniku nádorového onemocnění je považováno za zanedbatelné; hodnoty $CR > 1 \cdot 10^{-4}$ již představují zdravotní riziko. Index nebezpečnosti (HI) slouží k vyjádření míry zdravotního rizika nekarcinogenního účinku škodlivin. Pokud je hodnota $HI \geq 1$, tak může látka nekarcinogenními účinky ovlivnit lidské zdraví [211][212]. Rovnice výpočtu CR a HI jsou popsány níže:

$$CR = EC \times IUR \quad (9)$$

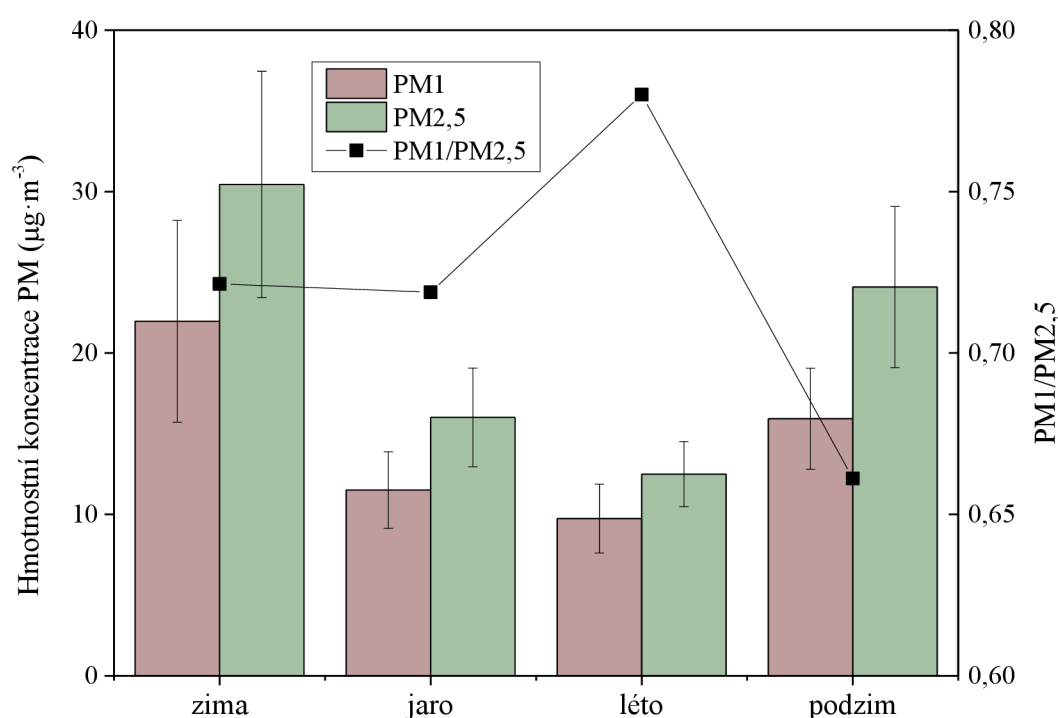
$$HI = \frac{EC}{RfC \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mg}}} \quad (10)$$

kde IUR je jednotka inhalačního rizika ($\text{m}^3 \cdot \mu\text{g}^{-1}$) a RfC je referenční inhalační koncentrace ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$). Hodnoty RfC a IUR každého prvku byly získány z integrovaného informačního systému o riziku [213] nebo literatury [211][212].

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Hmotnostní koncentrace prvků

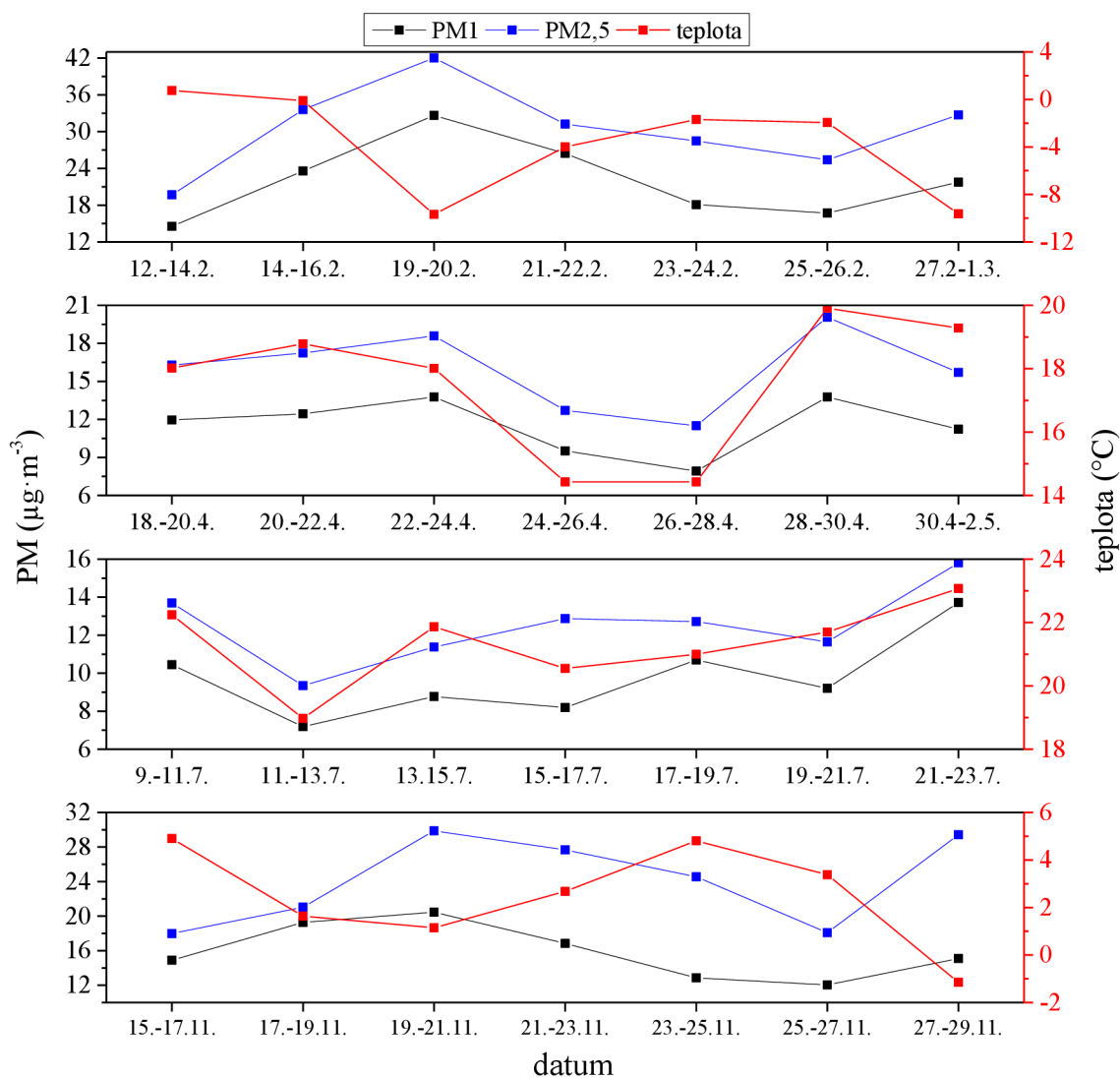
Průměrné hmotnostní koncentrace vzorků městského aerosolu PM1 a PM2,5 a poměr PM1/PM2,5 ve všech 4 kampaních na UIACH v roce 2018 jsou zobrazeny na Obr. 17. Obr. 18 uvádí denní změny hmotnostní koncentrace PM1 a PM2,5 aerosolu paralelně se změnami teploty pro jednotlivé kampaně. Hmotnostní koncentrace jednotlivých frakcí se pohybovaly v rozmezí 7,2–32,6 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (PM1) a 9,3–42,0 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (PM2,5). Průměrné hmotnostní koncentrace PM1 a PM2,5 aerosolu v průběhu všech kampaní byly 14,8 a 20,8 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Imisní limit pro PM2,5 v roce 2018 byl 25 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ za kalendářní rok. Podle získaných dat lze předpokládat, že imisní limit PM2,5 aerosolu pro tento rok nebyl v Brně překročen.



Obr. 17: Průměrné hmotnostní koncentrace a směrodatné odchytky PM1 a PM2,5 aerosolu ve všech kampaních roku 2018 v Brně.

V rámci jednotlivých kampaní se průměrné hodnoty hmotnostních koncentrací obou frakcí PM liší. Sezonní změny hmotnostních koncentrací PM1 i PM2,5 souvisí s rozdílnými zdroji a složením PM a meteorologickými podmínkami během jednotlivých kampaní. Poměry hmotnostních koncentrací PM1/PM2,5 byly v rozmezí 0,66–0,78. Tyto výsledky ukazují, že ve všech ročních obdobích submikronová frakce tvořila více než polovinu jemné frakce. Hmotnostní koncentrace PM1 a PM2,5 v zimě a na podzim vykazovaly negativní korelaci s teplotou (korelační koeficient pro PM1 $r_{\text{zima}} = -0,68$, $r_{\text{podzim}} = -0,47$ a korelační koeficient pro PM2,5 $r_{\text{zima}} = -0,73$, $r_{\text{podzim}} = -0,65$). V létě a na jaře měly hmotnostní koncentrace s teplotou silnou pozitivní korelaci (korelační koeficient pro PM1 $r_{\text{jaro}} = 0,85$, $r_{\text{léto}} = 0,81$ a korelační koeficient pro PM2,5 $r_{\text{jaro}} = 0,88$, $r_{\text{léto}} = 0,81$). Vyšší teploty mohou souviset s větší rychlostí reakcí vedoucí ke tvorbě aerosolu, což přispívá k hmotnostní koncentraci PM [214].

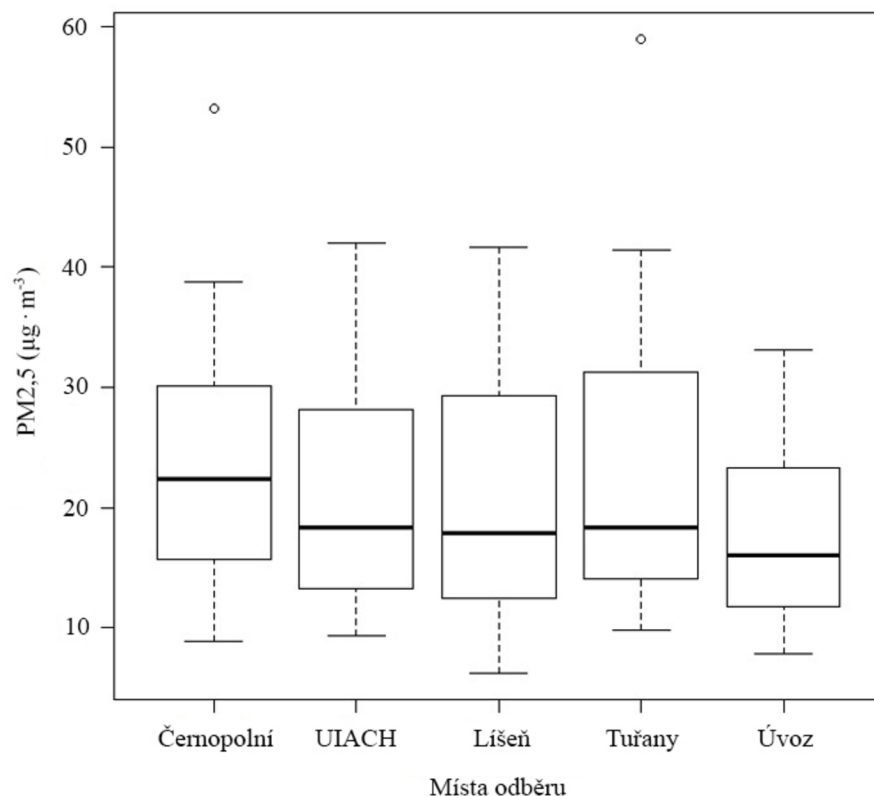
V chladnějších ročních obdobích (zima a podzim) byly hmotnostní koncentrace aerosolu vyšší než v teplejších ročních obdobích (jaro, léto), což souvisí s topnou sezónou v chladnější části roku. Nízké teploty ovlivňují intenzitu vytápění domácností, což způsobuje zvýšenou hmotnostní koncentraci aerosolu v zimě a na podzim oproti létu a jaru. Mezi hmotnostními koncentracemi PM v průběhu pracovních dní a o víkendu nebyl patrný žádný výrazný rozdíl.



Obr. 18: Hmotnostní koncentrace (PM1 a PM2,5) a teplota v průběhu studovaného období.

Pro ověření reprezentativnosti místa odběru vzorků na venkovní terase UIACH byly pomocí Kruskal-Wallis testu porovnány hmotnostní koncentrace PM2,5 změřené na UIACH s koncentracemi PM2,5 z dalších odběrných míst v Brně, kde jsou koncentrace PM2,5 monitorovány ČHMÚ na čtyřech stanicích (Černopolní-Dětská nemocnice, Úvoz, Líšeň, Tuřany) s využitím automatizovaného měřicího programu. Porovnání prokázalo, že koncentrace PM2,5 vzorkované na venkovní terase UIACH jsou srovnatelné s koncentracemi PM2,5 naměřenými ve stejných časových obdobích na jiných měřicích stanicích v Brně. Zvolené místo odběru je proto reprezentativním místem odběru z hlediska koncentrací PM2,5 pro Brno (Obr. 19). Reprezentativnost UIACH z hlediska hmotnostní koncentrace PM1

nebylo možné ověřit, jelikož koncentrace PM1 nejsou zatím na stanicích ČHMÚ v Brně rutinně sledovány.



Obr. 19: Porovnání koncentrací PM_{2,5} z odběrového místa na UIACH s jinými odběrovými místy v Brně.

5.2 Celkové koncentrace prvků

V Tab. 8 je uveden souhrn průměrných, maximálních a minimálních koncentrací prvků ve vzorcích PM1 a PM_{2,5}, limity detekce (LOD) a limity kvantifikace (LOQ). Imisní limity těžkých prvků (As, Cd, Pb, Ni) s prokazatelnými škodlivými účinky na lidské zdraví nebyly, podle naměřených dat, v roce 2018 v Brně pravděpodobně překročeny.

Suma hmotnostních koncentrací analyzovaných prvků představovala v PM1 2,0 % z celkové hmotnostní koncentrace frakce a v PM_{2,5} to bylo v průměru 3,5 % z celkové hmotnostní koncentrace frakce. Nejvyšší podíl prvků na hmotnosti byl detekován na jaře (3,5 % v PM1 a 5,7 % v PM_{2,5}). V ostatních ročních obdobích byly příspěvky prvků k hmotnosti částic srovnatelné (1,5 % v PM1 a 2,9 % v PM_{2,5} v zimě, 1,4 % v PM1 a 3,0 % v PM_{2,5} v létě, 1,7 % v PM1 a 2,3 % v PM_{2,5} na podzim). Nejvyšší hmotnostní koncentrace sumy měřených prvků byly pro obě frakce pozorovány na jaře a nejnižší v létě. Na jaře byl také pozorován nejvyšší příspěvek prvků k celkové hmotnosti PM. Příspěvky prvků k celkové hmotnostní koncentraci aerosolu mohly být ovlivněny rozdílnými emisními zdroji jednotlivých prvků a také výškou mezní vrstvy v různých ročních obdobích [215].

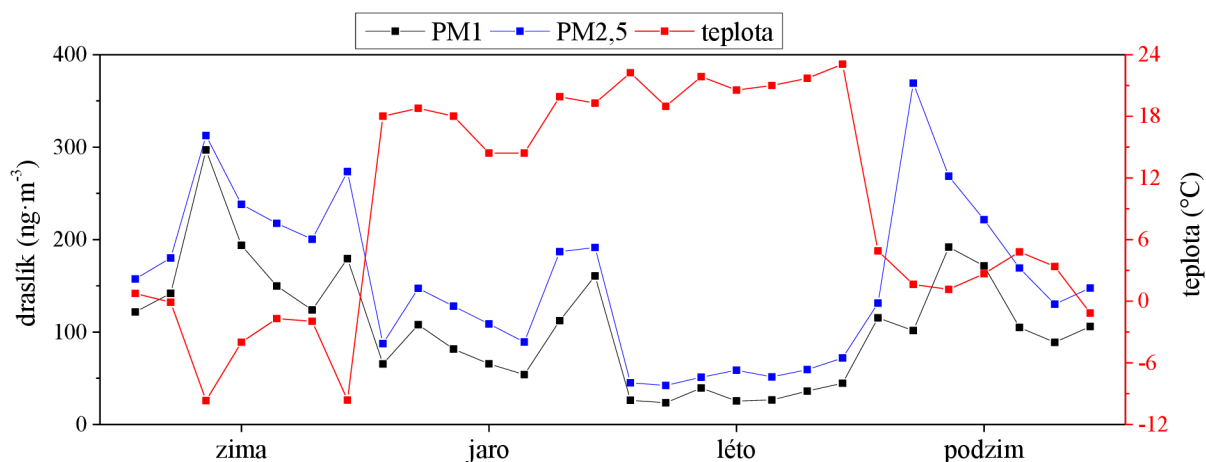
Tab. 8: Průměrné koncentrace prvků (ng·m⁻³) vázaných na PM1 a PM2,5 v jednotlivých kampaních.

		Al	As	Ba	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Ni	Pb	Sb	Se	Sn	Ti	V	Zn	
zima	PM1	ø	11,5	1,01	0,37	9,65	0,32	0,04	0,33	1,97	38,9	172	4,83	2,17	51,6	0,38	7,36	0,48	0,65	0,70	0,55	0,24	20,3
		min	6,62	0,65	0,24	1,39	0,20	0,02	0,10	1,40	25,9	122	3,04	1,26	13,9	0,23	3,46	0,25	0,48	0,39	0,23	0,07	14,6
		max	23,6	1,41	0,56	19,3	0,47	0,05	0,67	2,75	58,6	297	8,06	4,39	147	0,50	10,9	0,78	0,91	1,36	1,21	0,54	38,6
	PM2,5	ø	97,2	1,28	2,45	101	0,48	0,08	1,02	4,53	178	226	35,7	5,09	176	0,62	9,90	0,75	0,84	1,15	5,07	0,53	39,9
		min	63,2	0,90	1,40	46,1	0,21	0,05	0,58	2,85	108	157	18,8	3,25	69,8	0,40	3,94	0,41	0,48	0,76	3,23	0,21	18,3
		max	167	1,67	3,65	182	0,85	0,11	0,34	8,23	260	313	58,7	8,09	528	0,99	14,5	1,38	1,08	2,24	9,16	1,13	82,6
jaro	PM1	ø	56,4	0,49	1,06	31,6	0,12	0,03	0,40	1,76	77,9	15,0	2,01	102	0,25	3,12	0,50	0,64	0,59	1,90	0,37	13,9	
		min	13,0	0,27	0,63	22,1	0,04	0,02	0,30	1,55	44,2	53,9	6,16	1,40	84,0	0,17	1,05	0,25	0,35	0,36	0,53	0,14	5,64
		max	103	0,98	1,23	37,0	0,28	0,04	0,55	2,34	99,3	160	24,2	2,75	117	0,46	5,72	0,69	1,04	0,89	0,53	0,73	34,0
	PM2,5	ø	200	0,57	3,69	99,6	0,13	0,08	1,14	4,13	272	134	53,2	5,32	106	0,47	3,35	0,58	0,69	1,00	7,61	0,67	17,3
		min	103	0,36	2,46	64,2	0,06	0,05	0,79	3,34	147	87,5	28,5	3,79	84,7	0,26	1,29	0,40	0,42	0,82	3,16	0,33	9,74
		max	347	1,05	4,32	141	0,24	0,14	1,55	5,10	348	191	86,7	7,09	132	0,64	5,70	0,86	0,99	1,41	11,31	1,27	31,9
léto	PM1	ø	13,0	0,57	0,18	19,5	0,03	0,01	0,24	0,98	33,1	31,7	4,67	1,09	18,4	0,21	1,66	0,94	0,53	0,33	0,71	0,09	3,86
		min	8,68	0,16	0,06	10,5	0,02	0,01	0,16	0,57	25,6	23,5	3,41	0,73	6,6	0,12	0,91	0,23	0,35	0,25	0,44	0,05	2,82
		max	16,2	1,10	0,51	33,5	0,05	0,01	0,33	1,42	39,4	44,6	6,63	1,98	40,2	0,28	2,52	10,54	0,78	0,48	0,89	0,20	6,25
	PM2,5	ø	57,6	0,62	1,12	73,5	0,03	0,03	0,53	2,54	106	54,3	19,6	2,21	48,2	0,29	1,69	1,83	0,57	0,58	2,87	0,14	6,48
		min	39,4	0,17	0,78	56,2	0,03	0,02	0,35	1,36	86,4	42,2	15,4	1,53	19,4	0,22	0,97	0,30	0,37	0,40	2,06	0,09	4,60
		max	76,9	1,35	1,38	101	0,05	0,03	0,70	3,33	121	71,9	25,6	3,42	123	0,41	3,24	5,89	0,91	0,75	3,79	0,17	11,8
podzim	PM1	ø	4,30	0,57	0,11	10,9	0,15	0,02	0,40	1,62	28,0	126	4,30	1,36	66,3	0,18	5,34	0,52	0,45	0,60	0,18	0,08	25,8
		min	0,76	0,35	0,00	5,61	0,08	0,00	0,10	0,94	14,8	88,8	2,46	0,76	30,7	0,14	3,10	0,21	0,27	0,30	0,10	0,07	10,8
		max	6,15	0,82	0,23	14,7	0,20	0,03	0,62	2,76	38,4	192	6,77	1,97	127	0,27	6,48	0,92	0,64	0,89	0,26	0,10	27,1
	PM2,5	ø	34,3	0,92	1,19	46,8	0,25	0,04	0,98	4,39	101	205	11,3	3,25	80,2	0,31	7,75	0,64	0,72	1,02	1,19	0,19	44,7
		min	6,71	0,66	0,64	20,1	0,13	0,01	0,37	3,23	59,9	130	4,55	1,49	43,1	0,22	4,39	0,41	0,02	0,05	0,03	0,14	20,8
		max	75,5	1,59	1,98	83,5	0,60	0,07	1,51	6,73	165	369	19,6	5,04	113	0,42	18,4	0,99	1,26	2,16	2,91	0,39	112
LOD		0,012	0,003	0,0007	0,306	0,0001	0,0001	0,005	0,014	0,038	0,551	0,046	0,002	0,077	0,003	0,001	0,0008	0,004	0,019	0,0006	0,002	0,025	
LOQ		0,022	0,007	0,0011	0,732	0,0003	0,0003	0,012	0,022	0,052	1,430	0,071	0,004	0,173	0,008	0,003	0,0021	0,010	0,003	0,0015	0,003	0,053	

Analyzované prvky lze rozdělit podle jejich průměrných celoročních koncentrací na skupinu dominantních prvků, jejichž koncentrace se nacházela v řádech stovek $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$, majoritních prvků s koncentrací v řádech desítek $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$ a minoritních, jejichž koncentrace se nacházela v řádech jednotek $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$. V PM_{2,5} frakci byly 4 dominantní prvky (Al, Fe, K, Na), 3 majoritní (Ca, Mg, Zn) a 14 minoritních (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Ti, V). V PM₁ frakci byl 1 dominantní prvek (K), 5 majoritních (Al, Ca, Fe, Na, Zn) a 15 minoritních (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, Ti, V). Rozdělení prvků se v rámci jednotlivých sezón může měnit, jelikož koncentrace prvků v aerosolu je ovlivněna mnoha faktory.

Studované prvky mohou pocházet z mnoha zdrojů. Některé prvky (např. As, Cd, Cr, Co, Ca, Cu, Fe, Mn, Pb, Sb, Se nebo Zn) pochází z průmyslových procesů, spalování uhlí, biomasy a dopravy. Dalšími zdroji mohou být spalování odpadu v domácnostech (např. Cd, Cu, Pb, Sb, Sn, Ti a Zn), spalovna komunálního odpadu v Brně-Lišni (např. As, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, V a Zn) nebo cementárna v Mokré (např. As, Ca, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb a Zn), umístěné na východ od odběrného místa [216][217][218]. Prvky také mohou pocházet z přírodních zdrojů, některé ze studovaných kovů jsou součástí minerálů nebo se nacházejí v zemské kůře (Al, Ca, Co, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ti) [199][200].

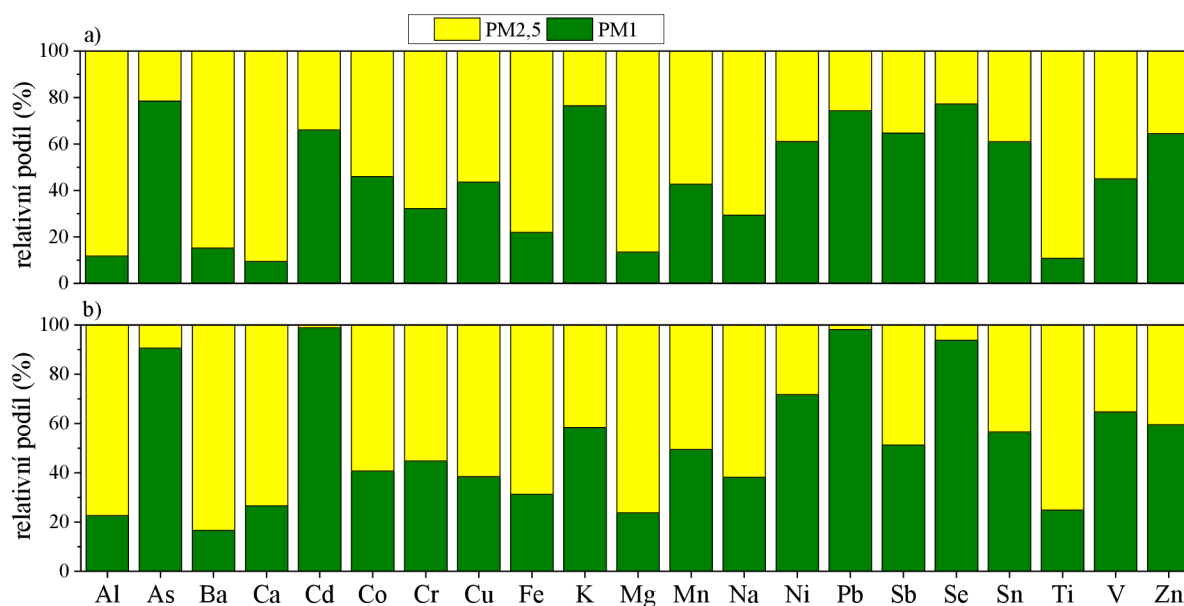
Prvky pocházející převážně z antropogenních zdrojů (např. As, Cd, Cu, K, Pb, Se, Sn a Zn) vykazovaly podobné změny koncentrací v rámci jednotlivých kampaní. Jejich koncentrace byly vyšší v průběhu chladnějších ročních období (zima a podzim) než v teplejších (jaro a léto). Nárůst průměrných koncentrací těchto prvků v PM₁ i PM_{2,5} mohl souviset s průběhem topné sezóny, kdy dochází ke zvýšení emisí ze spalování uhlí a biomasy za účelem vytápění domácností a špatnými rozptylovými podmínkami, které jsou způsobeny nízkou mezní vrstvou a nízkou rychlostí větru [218]. Asi nejvýraznější sezónní závislost byla naměřena pro draslík, jehož koncentrace v obou velikostních frakcích aerosolu byla značně vyšší v zimě a na podzim než na jaře a v létě. Tato sezónní závislost je pravděpodobně způsobena jeho primárními zdroji (spalování uhlí a biomasy) [219], jejichž emise se zvyšují v průběhu topné sezóny. Toto tvrzení potvrzují i grafy závislosti draslíku na teplotě, kdy s klesající venkovní teplotou narůstala koncentrace draslíku v ovzduší (Obr. 20).



Obr. 20: Závislost koncentrace draslíku ($\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$) na teplotě

Koncentrace kovů, které primárně pocházejí z přírodních zdrojů (např. Al, Ba, Ca, Fe, Mg a Ti), byly naopak vyšší v teplejších ročních obdobích než v těch chladnějších. Na jaře byl viditelný nárůst koncentrací Al, Ba, Ca, Fe, Mg a Ti, hlavně v PM_{2,5} frakci, který mohl být způsobený zvýšenou resuspenzí půdních částic. Nárůst koncentrace kovů pocházejících z resuspenze zemské kůry v teplejších ročních obdobích je pravděpodobně způsoben vyšší rychlostí větru a nižší vlhkostí. V létě byly také naměřeny vysoké koncentrace Sb v obou frakcích, které mohly být způsobeny oděrem brzdových destiček a resuspenzí silničního prachu obsahujícího produkty oděru [220].

Při porovnání (Obr. 21) koncentrací studovaných prvků v PM₁ a PM_{2,5} je patrné, že některé prvky pocházející primárně z antropogenních zdrojů (Cd, Pb, Ni, K, Pb, Se, Sn a Zn) jsou více zastoupeny v PM₁ frakci, zatímco kovy pocházející z přírodních zdrojů (Al, Ba, Ca, Fe, Mg, Na a Ti) jsou více zastoupeny v PM_{2,5} frakci. Při porovnání těchto poměrů v zimní a letní kampani jsou u některých prvků značné rozdíly v distribuci kovu mezi velikostní frakce aerosolu. Například poměr PM₁/PM_{2,5} draslíku byl o 20 % vyšší v chladnějších ročních obdobích než v těch teplejších, jelikož hlavním zdrojem draslíku v PM₁ je spalování biomasy v rámci vytápění domácností [219]. Nárůst zastoupení As, Cd, Pb a Se v PM₁ v letní kampani mohl být způsoben zlepšenými rozptylovými podmínkami, které umožnily transport částic i z větších vzdáleností, a tudíž větší ovlivnění vzorkovaného ovzduší emisemi z průmyslových spalovacích procesů nebo spalování odpadů.



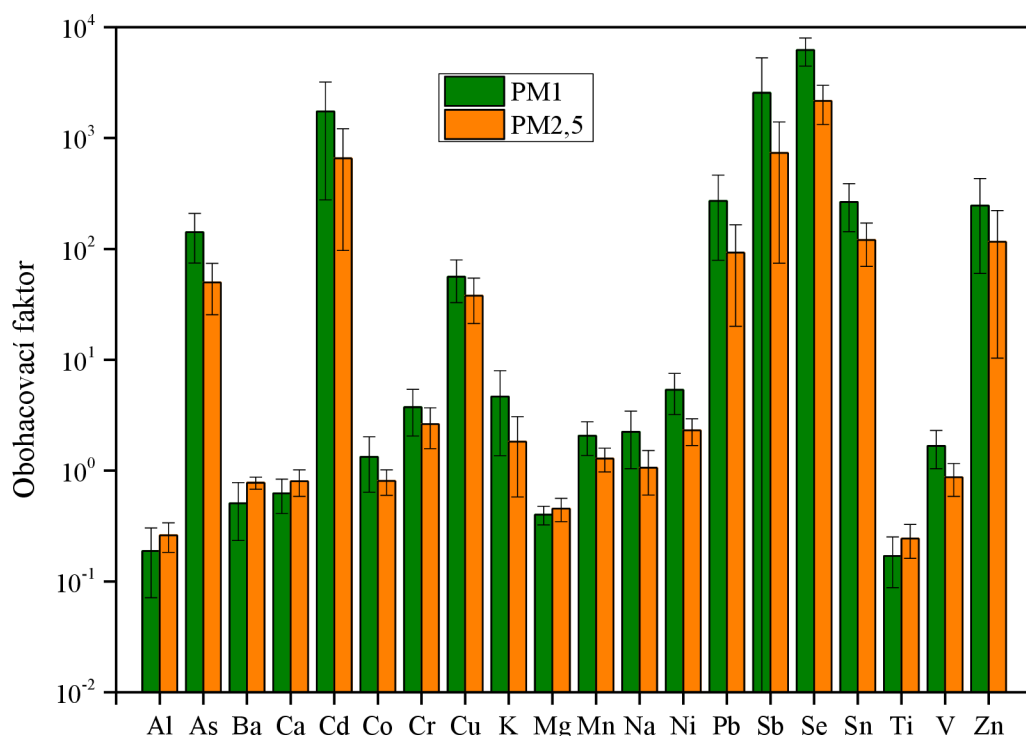
Obr. 21: Poměry koncentrací studovaných prvků v PM₁ a PM_{2,5} v zimě (a) a v létě (b).

5.3 Zdroje prvků

Rozdíly v chemickém složení PM jsou dány velkou diverzitou zdrojů aerosolů. V rámci měst lze předpokládat, že hlavními zdroji aerosolu jsou doprava, průmysl, spalování v domácnostech (především v zimě), regionální a dálkový transport. Identifikace těchto zdrojů byly provedeny výpočtem obohacovacího faktoru a metodou receptorového modelu PMF.

5.3.1 Obohacovací faktor

Obohacovací faktor je možné použít jako obecné určení zdroje aerosolu (přírodní nebo antropogenní), protože stanovuje stupeň obohacení prvku ve vzorku ve srovnání s obsahem referenčního prvku v půdě. Pro rozlišení antropogenního a přírodního původu analyzovaných prvků byl vypočítán obohacovací faktor jako průměr pro všechny kampaně (Obr. 22). Jako referenční prvek bylo vybráno železo, které je považováno za prvek zemské kůry [199]. Čím vyšší je hodnota obohacovacího faktoru, tím vyšší je pravděpodobnost, že prvek pochází z antropogenního zdroje. Prvek pochází primárně z přírodního zdroje, pokud je jeho EF <10. Primární antropogenní původ prvku indikuje EF >100 [221].



Obr. 22: Průměrné hodnoty EF pro jednotlivé prvky a PM frakce.

Vysoké hodnoty EF byly vypočítány pro As, Cd, Cu, Pb, Sb, Se, Sn a Zn, což naznačuje, že tyto prvky pochází primárně z antropogenních zdrojů. Nízké hodnoty EF pro Al, Ba, Ca, Co, Mg, Na a Ti naznačují, že tyto prvky z velké části pochází z přírodních zdrojů a příspěvek antropogenních zdrojů ke koncentraci těchto prvků je minimální.

Většina prvků (As, Cd, Pb, Sb, Se, Sn, Zn) emitovaných primárně z antropogenních zdrojů měla vyšší hodnoty EF v PM1 frakci než v PM2,5 frakci, zatímco u prvků pocházejících hlavně z přírodních zdrojů (Al, Ba, Ca, Mg, Ti) měly vyšší hodnoty EF v PM2,5 frakci než v PM1 frakci. Tyto výsledky potvrzují zvýšenou asociaci antropogenních zdrojů s menšími aerosolovými částicemi [222][223]. Při porovnání sezónních změn hodnot EF bylo pozorováno, že většina prvků pocházejících z antropogenních zdrojů (As, Cd, Co, Cu, K, Pb, Se, Sn a Zn) v obou frakcích má vyšší hodnoty EF v chladnějších ročních obdobích, zatímco prvky emitované přírodními zdroji (Al, Ba, Ca, Mg) s nízkými hodnotami EF sezónní trend nevykazovaly.

5.3.2 Pozitivní maticová faktorizace

Modely vícerozměrové faktorové analýzy, jako je PMF, umožňují odvodit neznámé zdroje a jejich příspěvky z dostupných informací o aerosolu (např. hmotnostní koncentrace aerosolu, koncentrace jednotlivých komponent PM). Model PMF je v současné době jedním z nejpoužívanějších receptorově orientovaných modelů pro identifikace zdrojů znečištění ovzduší [224][225]. Pro správnou funkci tohoto vícerozměrového statistického modelu je potřeba relativně velký počet vzorků. Pomocí metod faktorové analýzy je velký počet proměnných ve složitých sadách analytických dat snížen na kombinace druhů (typy zdrojů a příspěvky zdrojů). Typy zdrojů jsou určeny porovnáním s měřenými profily. Příspěvky zdrojů určují relativní příspěvek identifikovaných zdrojů k výsledné koncentraci látky ve vzorku [226].

K určení příspěvků zdrojů k PM1 a PM2,5 byl model spuštěn několikrát s různými počty faktorů (3 až 6), aby se určil nejstabilnější výsledek a nejlepší diagnostika modelu. Byly zkoumány hodnoty residuí, výsledné profily zdrojů a změněná residua. Nejstabilnější forma modelu byla nalezena pro 3 faktory pro obě velikostní frakce aerosolu, kdy byla nejistota modelování 9,3 % pro PM1 a 3,0 % pro PM2,5. Na Obr. 23 jsou znázorněny příspěvky zdrojů ke koncentraci prvků. Zjištěné faktory vysvětlují dohromady 99 % v PM1 a 100 % v PM2,5. Přehled příspěvků jednotlivých zdrojů ke koncentraci PM1 a PM2,5 je uvedený v Tab. 9.

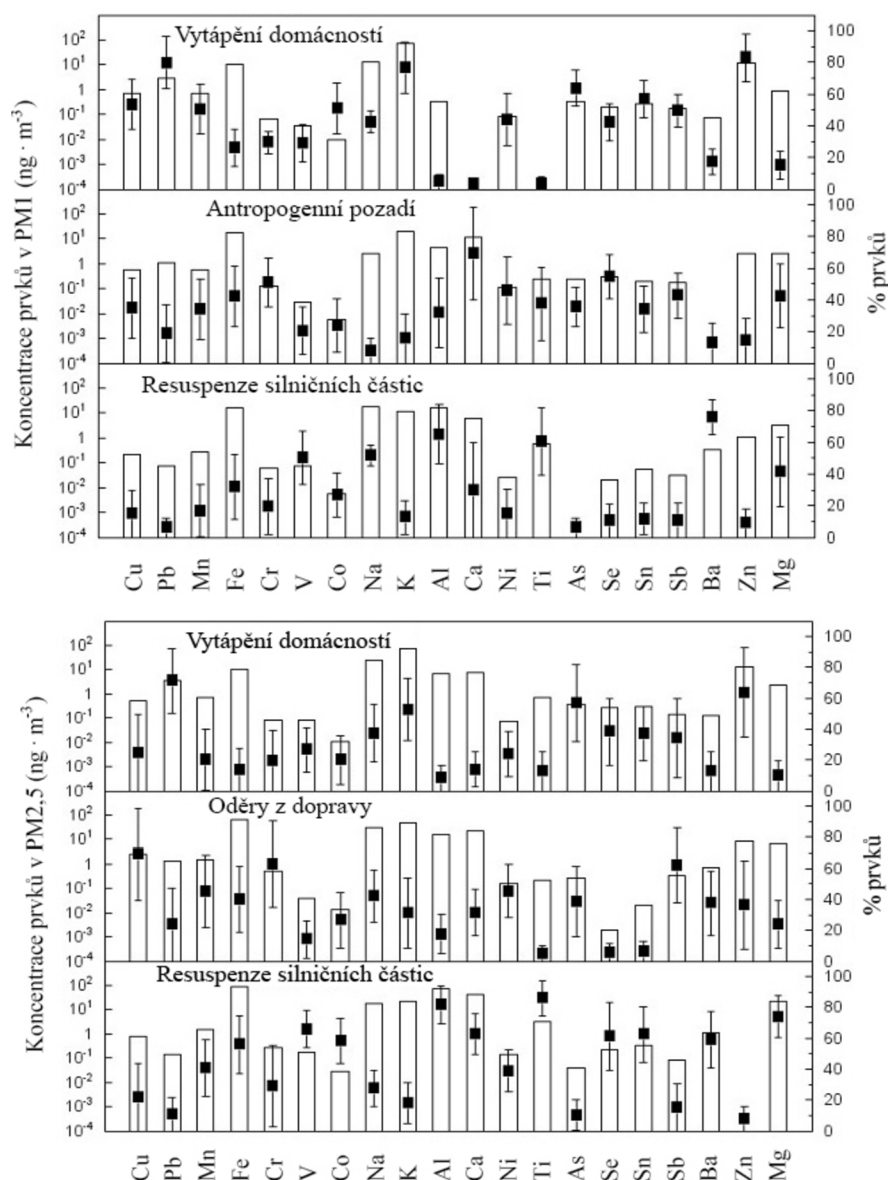
Tab. 9: Příspěvky jednotlivých zdrojů ke koncentraci PM1 a PM2,5.

faktory	PM1	PM2,5
vytápění domácností	53%	44%
resuspenze	1%	12%
oděr brzd	-	44%
antropogenní pozadí	45%	-
Σ faktorů	99%	100%

Prvním společným faktorem pro obě frakce bylo vytápění domácností, které vykazovalo silný sezónní trend a silnou korelaci (Personův korelační koeficient $r = 0,82$) se zimními maximy v obou frakcích. Tento faktor byl spojen s vysokými koncentracemi K, Zn, Pb a As pocházejících převážně ze spalování uhlí a biomasy, které jsou stále často používány k vytápění ve spoustě evropských zemí. V Brně jsou domácnosti vytápěny primárně s využitím plynu nebo elektřiny. Spalování uhlí nebo dřeva se používá k vytápění pouze 0,46 % brněnských domácností, zatímco menší vesnice, které se v okolí Brna nachází, využívají spalování uhlí a dřeva pro vytápění domácností až z 11 % [216]. Z toho důvodu lze předpokládat, že primární příspěvek K, Zn, Pb a As pocházel spíše z regionálního transportu PM1 z okolních obcí do Brna. Při porovnání příspěvku vytápění domácností ke koncentraci prvků v jednotlivých frakcích dominoval příspěvek 53 % k PM1 a 44 % k PM2,5 frakci.

Druhým společným faktorem pro obě velikostní frakce aerosolu byla resuspenze silničních částic (např. Fe, V, Co, Na, Al, Ca, Ni, Ti, Se, Sn, Ba, Mg), které dominují prvky zemské kůry. Resuspenze částic silničního prachu a částic souvisejících s opotřebením vozovky je jedním z hlavních příspěvů k emisím z dopravy (bez emisí z výfuků). Vzhledem k tomu,

že místo odběru vzorků se nachází u velmi frekventované silnice, která je také zatížena častým tramvajovým provozem, tak resuspenze mohla také zahrnovat částice související s opotřebením tramvajové kolejnice. Dalším zdrojem jsou resuspenze z parkovišť poblíž vzorkovacího místa. Pod venkovní terasou, na které byly umístěny velkoobjemové vzorkovače, se nachází parkoviště pro zaměstnance Ústavu analytické chemie AV ČR a poblíž vzorkovacího místa se nachází tři velká veřejná parkoviště. Jelikož resuspenze přispívá primárně k hrubé frakci aerosolu, byly očekávány odlišné příspěvky pro PM1 a PM2,5. Příspěvek resuspenze k jednotlivým velikostním frakcím aerosolu činil v průměru 12 % pro PM2,5 a pouze 1 % pro PM1.



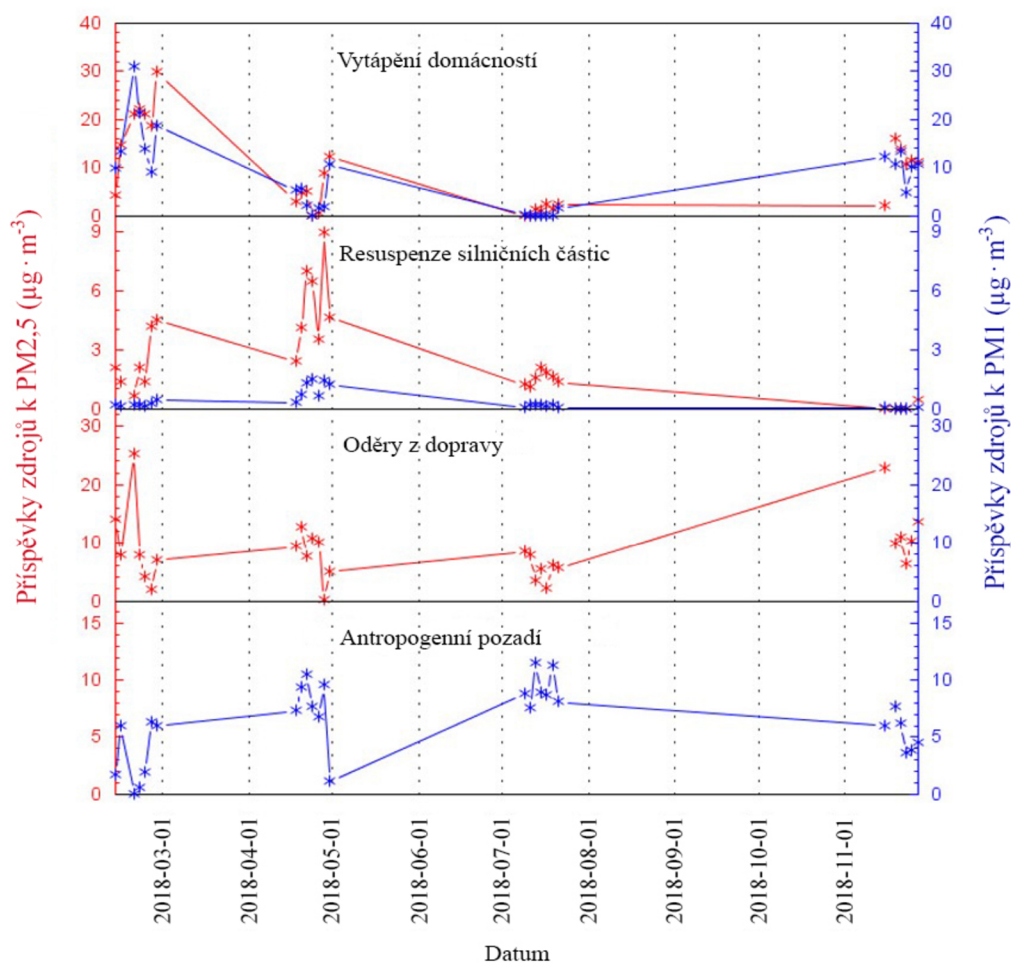
Obr. 23: Koncentrace prvků a příspěvky jednotlivých zdrojů ke koncentraci prvků v PM1 a PM2,5 aerosolu.

Dalším faktorem, který ovšem přispíval pouze k PM2,5 frakci (průměrný příspěvek byl 44 %), byl oděr brzd (např. Cu, Mn, Cr, Co, Ni, As, Sb). Opotřebením brzd uvolňuje do ovzduší částice menší než 10 µm a výrazně přispívá ke koncentraci stopových prvků ve vzduchu.

Tento příspěvek byl výrazně ovlivněn lokalitou vybraného vzorkovacího místa. Pod vzorkovacím místem se nachází parkoviště pro zaměstnance ústavu a zhruba 40 m od místa odběru je velký autobazar. Dále se v okolí zhruba 100 m od místa odběru nachází křižovatka, kde dochází k častým dopravním zácpám kvůli vysokému provozu (hlavně v ranních a odpoledních hodinách pracovních dnů).

Poslední faktor, který lze označit jako antropogenní pozadí (např. Cr, Co, Ca, Ni, Ti, As, Se, Sn, Sb), přispíval pouze k PM1 frakci (průměrný příspěvek 45 %). Za antropogenní pozadí lze označit například emise z výfuků, lokální (např. strojírenský průmysl, slévárna, spalovna komunálního odpadu) anebo regionální (např. cementárna) průmyslové emise.

Příspěvky jednotlivých faktorů ke koncentraci PM1 a PM2,5 frakci v průběhu vzorkovacích kampaní jsou znázorněny na Obr. 24. Výraznou sezónní závislost lze pozorovat u vytápění domácností a resuspenze, zatímco příspěvek z opotřebení brzd a antropogenního pozadí je v průběhu roku téměř konstantní. Příspěvek vytápění domácností se zvýšil v průběhu chladnějších ročních období, nejvýraznější nárůst příspěvku je možné pozorovat v průběhu zimní kampaně. Největší příspěvek resuspenze byl pozorován v průběhu jarní kampaně (hlavně u PM2,5).

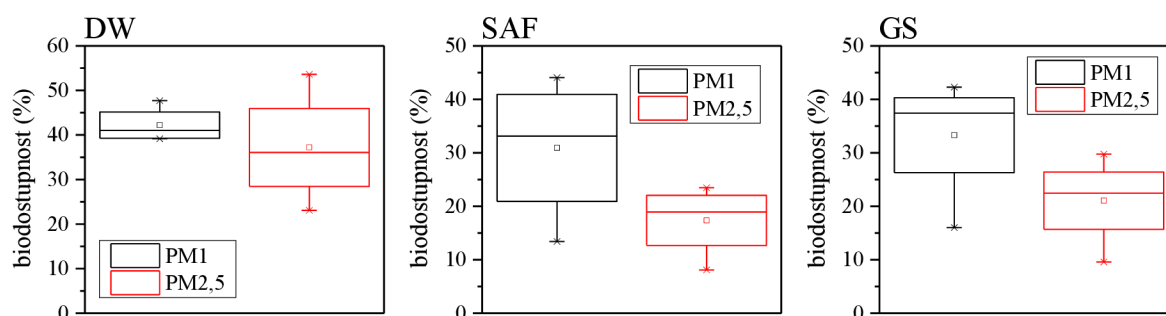


Obr. 24: Příspěvky zdrojů ke koncentraci PM1 a PM2,5 aerosolu v průběhu vzorkovacích kampaní.

5.4 Biodostupnost prvků

Biologická dostupnost prvku je jedním z faktorů, který ovlivňuje jeho potencionální negativní účinky na lidské zdraví. Při průchodu aerosolových částic dýchacím systémem, jsou částice deponovány na vnitřní povrch dýchací soustavy a následně uvolňovány do organismu pomocí různých plicních tekutin, ve kterých jsou součástí PM rozpuštěny [159]. Určení biodostupnosti některých složek PM v plicních tekutinách je důležité, zvláště pokud jsou částice pohlceny fagocyty. Prvky v rozpuštěné formě jsou snáze absorbovány buňkami, což usnadňuje jejich toxický vliv na organismus [146]. Nerozpustná frakce může být v těle zadržována nebo je vyloučena pomocí imunitního systému [159]. Biodostupnost prvku je definována jako podíl prvku, který je rozpustný v SLF. Lze jí vypočítat jako podíl koncentrace rozpuštěné frakce prvku v dané SLF a celkové koncentrace prvku.

Pro účely této studie byla využita *in vitro* metoda pro určení biodostupnosti prvků zachycených na PM1 a PM2,5 částicích za použití tří simulovaných plicních tekutin (deionizovaná voda, Gamblovův roztok a Simulovaná tekutina plicních sklípků). Deionizovaná voda se tradičně používá k určení biodostupnosti prvků díky jejímu neutrálnímu pH a minimálním interferencím při měření koncentrace prvků metodou ICP-MS. Nevýhodou této tekutiny je, že se ze všech tří zvolených SLF nejvíce liší od reálných fyziologických tekutin (iontová síla, nepřítomnost komplexujících ligandů atd.) [119][227]. Používání Gamblova roztoku (a jeho modifikovaných verzí) je též široce rozšířené, jelikož se svým složením a povrchovým napětím více blíží složení reálných fyziologických tekutin [119][228]. Nedávno byla na UIACH navržena nová SLF simulující tekutina v alveolách (Simulovaná kapalina plicních sklípků) [139]. Jejimi hlavními přednostmi jsou relativně jednoduché složení a nízká hodnota povrchového napětí, které se z vybraných SLF nejvíce blíží hodnotě povrchového napětí reálné tekutiny v plicích [139].



Obr. 25: Porovnání biodostupnosti sumy studovaných prvků v deionizované vodě (DW), simulované tekutině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS) pro PM1 a PM2,5. Krabicová část grafu je shora ohraničena 3. kvartilem a zespodu 1. kvartilem, mezi nimi se nachází linie vymezující medián a čtverec označující průměr. Linie vycházející ze střední části grafu kolmo nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Odlehlé hodnoty jsou vykresleny jako jednotlivé body.

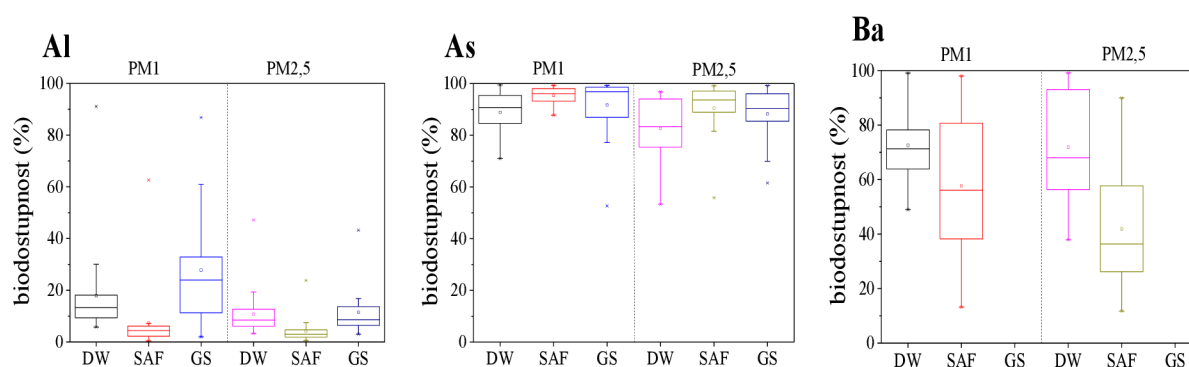
Na Obr. 25 jsou porovnány hodnoty biodostupnosti sumy studovaných prvků v PM1 i PM2,5 pro tři studované SLF. Biodostupnost prvků pro PM1 částice byla ve všech studovaných tekutinách vyšší než pro PM2,5 částice. Rozdíl biodostupnosti prvků v závislosti na velikostní frakci částic je způsoben několika faktory, které jsou detailně diskutovány v následující kapitole. Přestože v současné době nejsou PM1 částice běžně monitorovány,

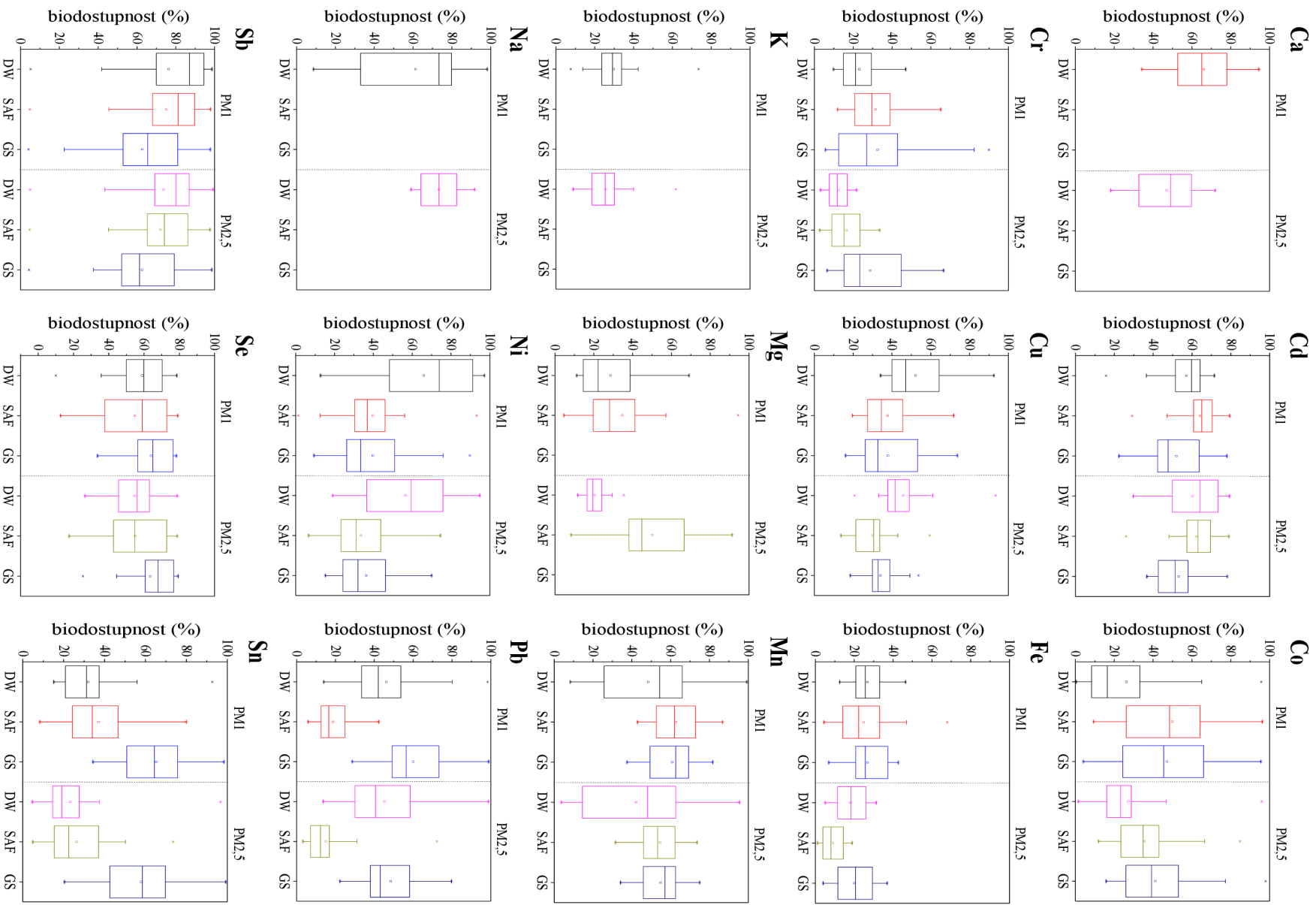
větší míra biodostupnosti prvků s nimi spojenými spolu s jejich schopností pronikat hlouběji do plic, je dělají potenciálně zdravotně závadnějšími než PM10 a PM2,5 částice, jejichž monitoring v dnešní době převažuje.

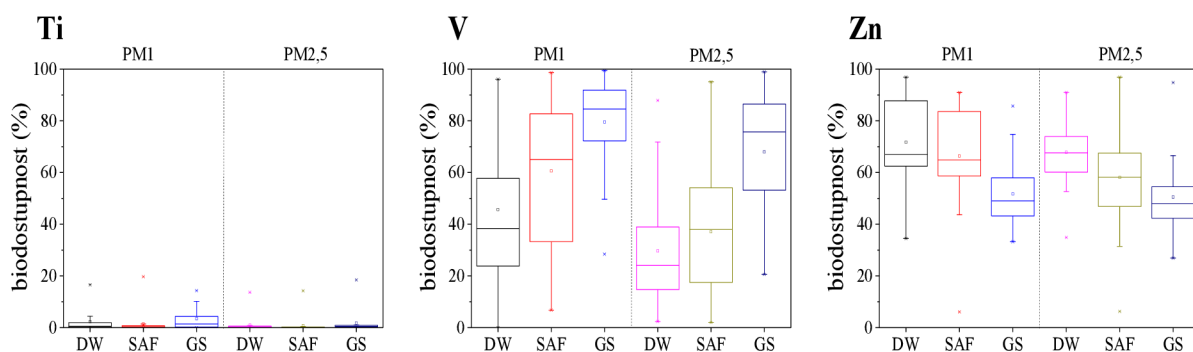
5.4.1 Biodostupné koncentrace prvků po extrakci do SLF

Biodostupné koncentrace prvku závisí na několika faktorech: speciace prvku, rozpustnost, chemické složení SLF a parametry extrakce. V rámci této studie byly filtry extrahovány 24 hodin, což odpovídá retenčnímu času nanočástic v alveolách [155]. I další studie potvrzuje dostatečnost 24hodinové extrakce pro maximální extrakci prvku při použití vody a Gamblova roztoku jako extrakční tekutiny [197]. Dalším faktorem, který může při určitých podmínkách ovlivňovat extrakční účinnost, je poměr pevné fáze ke kapalná fázi. Jelikož se v průběhu extrakce fázový poměr pevná/kapalná fáze nacházel v rozmezí limitních hodnot 1/500–1/50 000, tak extrakce v tomto případě nebyla tímto faktorem ovlivněna [197]. Účinnost extrakce v průběhu této studie byla tudíž závislá pouze na chemickém složení SLF a rozpustnosti prvků vázaných na PM.

Obr. 26 zobrazuje medián a průměrnou hodnotu biodostupnosti prvků ze 4 sezónních kampaní v roce 2018. Velký rozptyl hodnot (např. Ba, Co, Mn, Pb, Ni, V) indikuje významné rozdíly v biodostupnosti mezi vzorky v průběhu vzorkovacích kampaní. Obecně lze biodostupnost prvků rozdělit do 4 úrovní: nízká (<15 %), střední (15–30 %), vysoká (31–50 %) a velmi vysoká (>50 %) [229]. Velmi vysoká průměrná biodostupnost ve všech SLF byla zjištěna pro As, Cd, Mn, Sb a Se. Nejnižší průměrná biodostupnost byla změřena pro Al, Cr, Ti a Fe. Nízká biodostupnost Al a Fe mohla být způsobena jejich zapojením do nerozpustné frakce minerálního prachu [229]. Nízká biodostupnost Ti a Cr byla pravděpodobně způsobena větším zastoupením těchto prvků v nerozpustných formách (TiO₂ a Cr₂O₃) [230][231]. Přesnou biodostupnost některých prvků (Ca, K, Mg, Na) nebylo možné stanovit ve všech SLFs, jelikož byly součástí složení SAF nebo Gamblova roztoku. Při stanovení koncentrace barya v Gamblově roztoku docházelo ke vzniku interferencí, které znemožnily spolehlivé vyhodnocení jeho biodostupné koncentrace.







Obr. 26: Hodnoty biodostupnosti jednotlivých prvků v PM1 a PM2,5 v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS).

Rozdílné hodnoty biodostupnosti prvků ve studovaných simulovaných plicních tekutinách mohly být způsobeny rozdílným složením SLF, které ovlivňuje chelataci prvků, a povrchovým napětím tekutin. Gamblovův roztok obsahuje organické sloučeniny (např. citrát, acetát), které ovlivňují kinetiku rozpouštění prvků, a tudíž jejich biodostupnost [140][227]. Složení SAF je podstatně jednodušší než složení Gamblova roztoku, obsahuje méně solí a fosfolipid (dipalmitoylfosfatidylcholin, DPPC), který je hlavní složkou reálného plicního surfaktantu. Přídavek DPPC k SAF snižuje hodnotu povrchového napětí tekutiny, což má za následek zvýšenou smáčivost částic, zabránění agregaci částic a lepší kontakt mezi SLF a sloučeninami v PM [140]. Biologická dostupnost kovů také závisí na jeho chemickém stavu: oxidy, chloridy, sírany, dusičnany a uhličitany kovů jsou většinou v SLF snadno rozpustné, zatímco sulfidy, fosforečnany a křemičitany kovů se běžně považují za nerozpustné sloučeniny [232].

V závislosti na použité extrakční tekutině se nejvíce měnila biodostupnost vanadu a zinku, zatímco biodostupnost As, Cd, Mn, Fe, Cr, Sb a Se byla ve všech použitých SLF podobná. Vanad vykazoval nejvyšší biodostupnost v Gamblově roztoku a nejnižší v deionizované vodě. Zinek měl naopak nejvyšší hodnoty biodostupnosti při extrakci do deionizované vody a nejnižší v Gamblově roztoku.

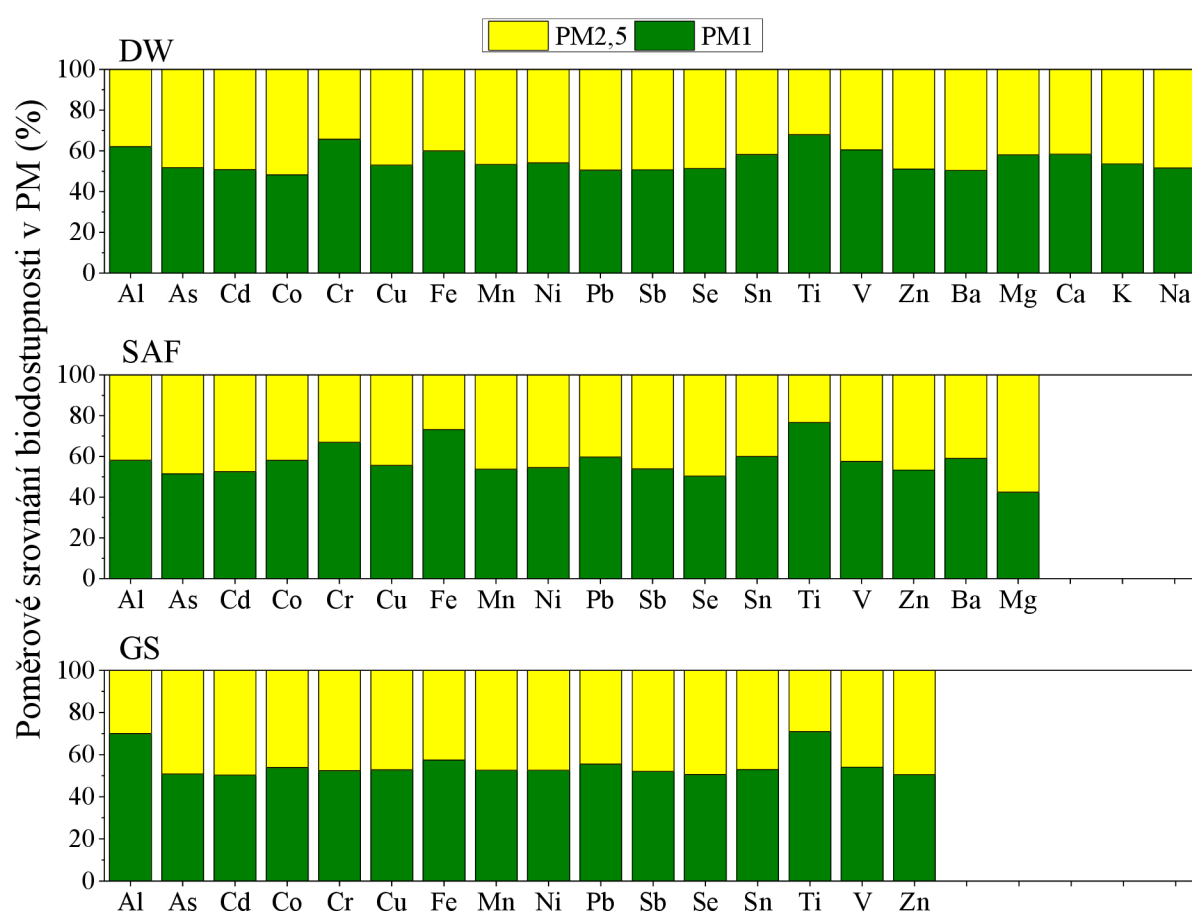
Pro některé prvky byla biodostupnost v SAF srovnatelná s biodostupností v Gamblově roztoku (Cu, Ni, Co), ale výrazně se lišila od hodnot biodostupnosti v deionizované vodě. Biodostupnost Cu a Ni v deionizované vodě byla o 12–26 % vyšší než biodostupnost v komplexnějších SLF. Důvodem poklesu biodostupnosti některých prvků (např. Cu, Ni, Zn) ve složitějších SLF může být jejich složení (např. fosfátové sloučeniny), které může omezit rozpustnost těchto kovů, a absence thiolové skupiny [233][234]. Cu, Ni a Zn mají poměrně silnou afinitu k thiolové skupině a jejím přidáním do SLF (např. ve formě cysteinu) by se mohla biodostupnost těchto kovů v SAF a Gamblově roztoku zvýšit [140][235]. Většina prvků, s výjimkou Pb a některých málo biodostupných kovů (Al, Cr, Ti a Fe), vykazovala velmi vysokou nebo vysokou biodostupnost v SAF. Nízká biodostupnost Pb mohla být způsobena přítomností fosfátů omezujících jeho rozpustnost a nepřítomností organických kyselin, které zvyšují rozpouštění olova z minerálů přítomných ve vzorcích aerosolu [140][154].

Obr. 27 znázorňuje porovnání biodostupnosti jednotlivých prvků v PM1 a PM2,5. S výjimkou Mg v SAF vykazovala většina prvků vyšší biodostupnost v PM1 frakci než

v PM_{2,5} frakci (o 0,1–28 %), což potvrzuje i srovnání biodostupnosti sumy studovaných prvků na Obr. 25. Z výsledků vyplývá, že použitá extrakční tekutina by mohla mít vliv na biodostupnosti některých prvků navázaných na různé PM (např. při použití Gamblova roztoku došlo ke zvýšení biodostupnosti Al z PM₁ frakce a Cr z PM_{2,5} frakce).

Při porovnání celkové koncentrace prvků a jejich biodostupné frakce (pro všechny tekutiny) je patrný jiný sezónní trend. Celkové koncentrace prvků byly vyšší v zimní kampani než v letní, zatímco koncentrace biodostupné frakce prvků byla vyšší v letní kampani. Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben různými zdroji prvků v průběhu kampaní. Nejvyšší sezónní rozdíly v biodostupnosti byly pozorovány pro Cu, V, Ni a Pb v obou PM frakcích.

Získané výsledky potvrzují, že biodostupnost prvku závisí na chemické formě, ve které je v PM přítomný, což ovlivňuje jeho schopnost vytvářet rozpustné komplexy. Biodostupnost dále závisí na velikosti částice vázající prvek a složení extrakční tekutiny.

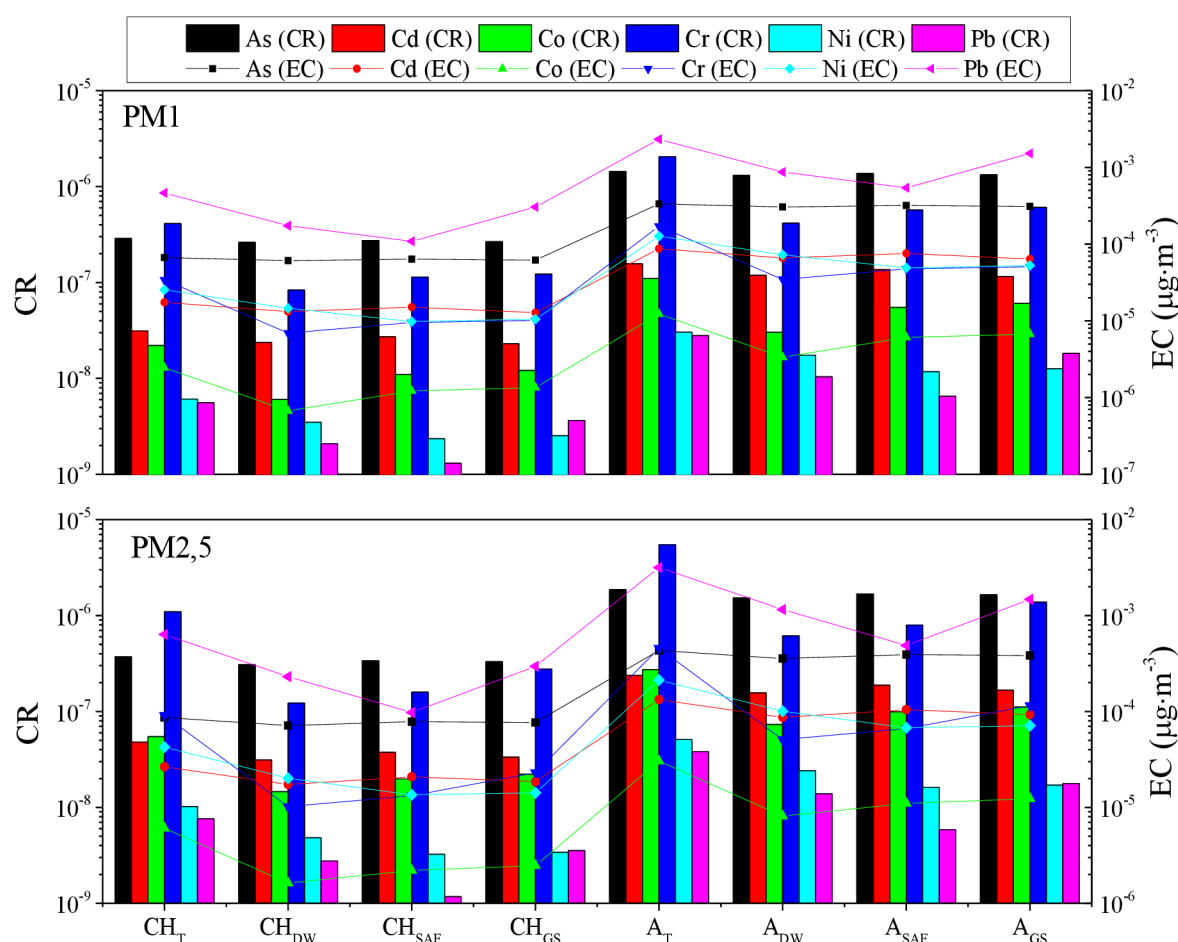


Obr. 27: Porovnání průměrné celoroční biodostupnosti prvků v PM₁ a PM_{2,5} v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS).

5.4.2 Zhodnocení zdravotních rizik

Pravděpodobnost vzniku rakoviny (CR) inhalací aerosolů s navázanými vybranými prvky (s použitím celkových i biodostupných koncentrací) byla vypočítána pro dvě reprezentativní skupiny: děti a dospělí. Pro výpočet CR byla předpokládána celoživotní doba expozice 70 let. Hodnoty indexu rizika (HI) jsou pro obě reprezentativní skupiny stejné. Pro výpočet CR a HI byly prvky vybrány na základě jejich možného zdravotního působení na člověka a na základě

v literatuře dostupných hodnot potřebných pro výpočet CR a HI [213]. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) klasifikuje látky v závislosti na jejich možném karcinogenním působení do několika skupin. Podle této klasifikace patří arsen, kadmium, chrom a nikl do skupiny látek karcinogenních pro člověka (skupina 1). Kobalt a olovo patří do skupiny látek s možnými karcinogenními účinky na člověka (skupina 2B). Hodnoty HI byly kromě výše napsaných prvků vypočítány i pro mangan a vanad, které mohou být pro člověka toxické [213].

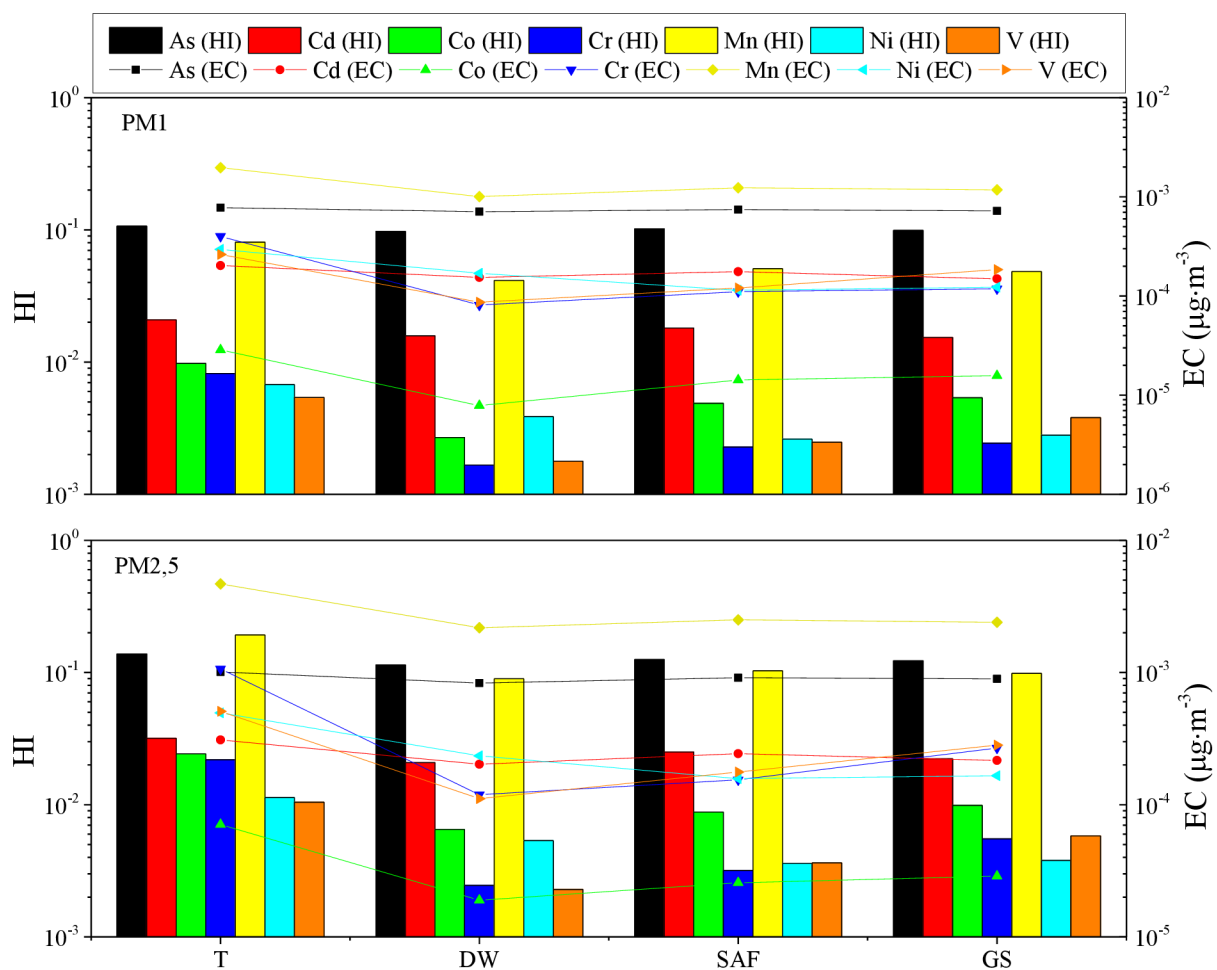


Obr. 28: Průměrné hodnoty rizika rakoviny (CR) a expoziční koncentrace (EC) prvků vázaných na PM1 a PM2,5 částice. Hodnoty CR byly vypočítány pro děti (CH) a dospělé (A) s celkovými (T) a biodostupnými koncentracemi prvků v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS)

V této studii byly hodnoty CR a HI vypočítány z průměrné celoroční koncentrace prvků během 4 sezónních kampaní. Na Obr. 28 jsou zobrazeny hodnoty CR pro celkové i biodostupné koncentrace prvků v PM1 a PM2,5 pro obě reprezentativní skupiny. Hodnoty CR byly pro obě reprezentativní skupiny a všechny prvky v rámci výše uvedených limitních hodnot. Nejvyšších hodnot dosahovalo CR chromu v PM2,5 ($CR_{\text{dospělý}} = 5,47 \cdot 10^{-6}$, $CR_{\text{dítě}} = 1,09 \cdot 10^{-6}$) při výpočtu s celkovou koncentrací kovu, tj. přibližně 1 dítě z miliónu nebo 5 osob z miliónu celoživotně exponovaných obyvatel. Jelikož u žádného prvku nedošlo k překročení limitních CR hodnot, lze předpokládat, že za aktuální úrovně koncentrací prvků

vázaných na PM v Brně nedochází k nárůstu karcinogenního ohrožení lidí působením výše uvedených prvků vázaných na PM1 a PM2,5.

Na Obr. 29 jsou zobrazeny hodnoty HI pro celkové i biodostupné koncentrace prvků v PM1 a PM2,5. Limitní hodnota nebyla pro žádný prvek překročena. Nejvyšší HI hodnoty byly spočítány pro As ($HI_{PM1} = 0,05$; $HI_{PM2,5} = 0,07$) a Mn ($HI_{PM1} = 0,04$; $HI_{PM2,5} = 0,09$) při použití jejich celkových koncentrací. Ze získaných výsledků lze usoudit, že inhalační riziko toxických prvků v PM1 a PM2,5 částicích městského aerosolu v Brně je zanedbatelné.



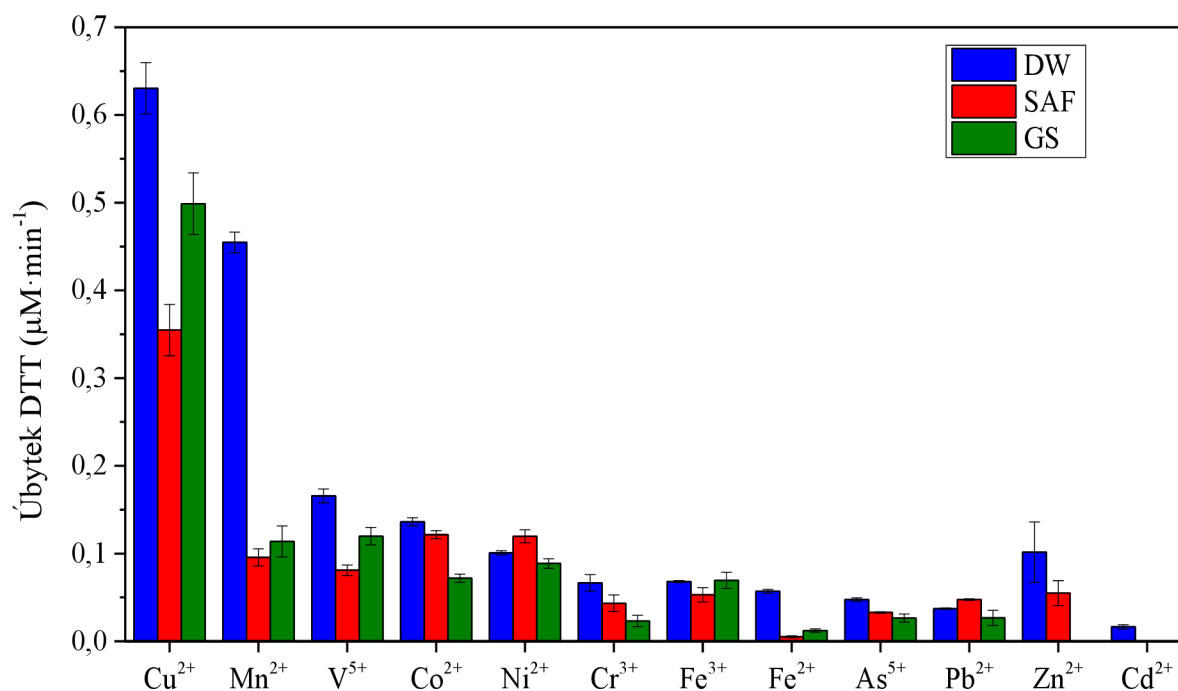
Obr. 29: Hodnoty indexu rizika (HI) a expozičních koncentrací (EC) vypočítané pro toxické prvky v PM1 a PM2,5 částicích pro celkové koncentrace (T) a biodostupné koncentrace prvků v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS).

5.5 Oxidativní potenciál

Pro studium oxidativního potenciálu PM částic byla vybrána metoda DTT testu, kdy DTT reprezentuje fyziologické redukční látky (NADH a NADPH) [234]. Tato metoda je citlivá na přechodné kovy, jejichž celkové a biodostupné koncentrace v PM jsou popsány výše. Metoda stanovení oxidativního potenciálu pomocí DTT testu byla nejdříve optimalizována s využitím standardních roztoků potencionálně redox-aktivních prvků. Poté byly testy OP prováděny na obou velikostních frakcích aerosolu, pro určení možného vlivu velikosti částic na OP; a ve třech SLF pro ověření vlivu složení extrakčního činidla na oxidativní potenciál.

5.5.1 Oxidativní potenciál standardních roztoků prvků

Oxidativní potenciál prvků posuzuje schopnost prvků generovat ROS. Pro zjištění oxidativního potenciálu jednotlivých prvků byly ve všech SLF provedeny série měření reakce DTT se standardními roztoky analyzovaných prvků v PM. Na Obr. 30 jsou znázorněny rychlosti úbytku DTT pro jednotlivé prvky o koncentraci 1 μM . U ostatních měřených prvků (Al^{3+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Sn^{2+} , Se^{4+} , Se^{2+} , Sr^{2+} , Hg^{2+}), případně dalších oxidačních stavů prvků (As^{3+} , Cu^+), nebyl v roztoku zaznamenán měřitelný úbytek DTT. Neměřitelný úbytek DTT pro As^{3+} a Cu^+ naznačuje vliv oxidačního stupně některých prvků na schopnost katalyzovat oxidaci DTT.



Obr. 30: Úbytek DTT ve standardních roztocích redox-aktivních prvků v deionizované vodě (DW), simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS) korigovaný slepým pokusem. Koncentrace prvků byla ve všech případech 1 μM .

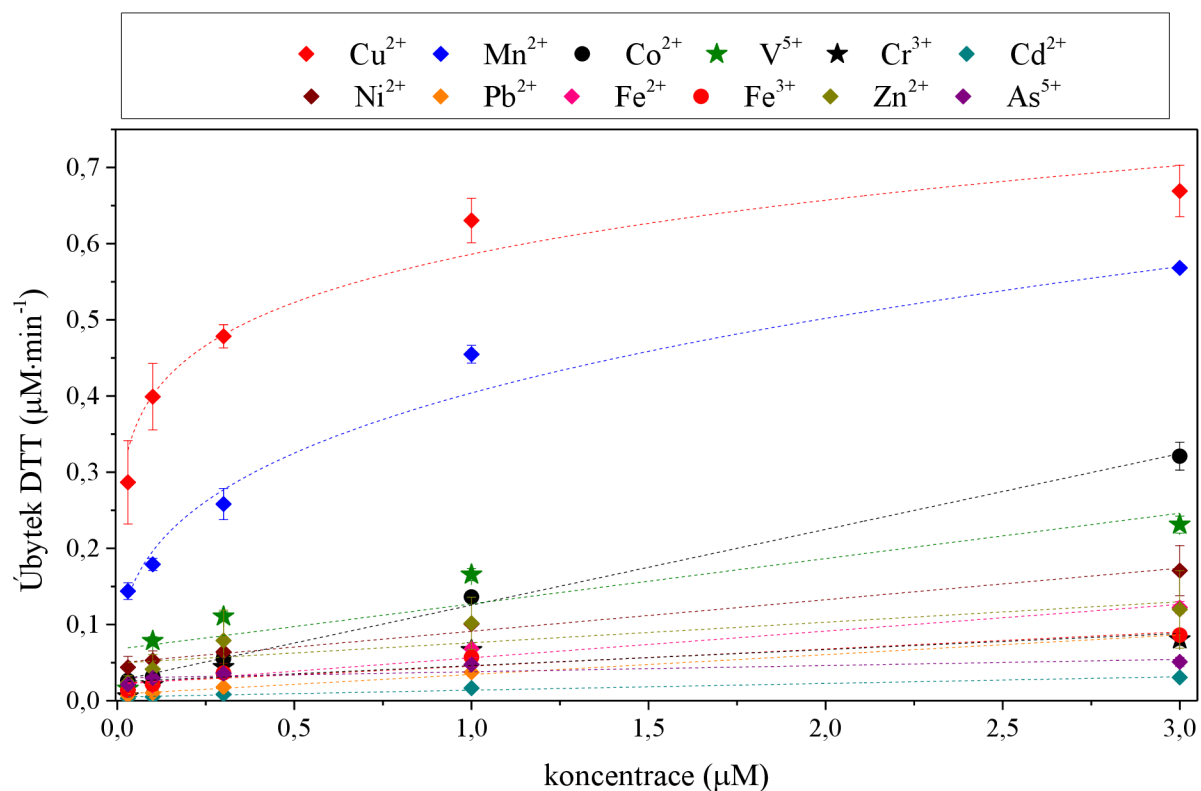
Reaktivita prvků se lišila v závislosti na použité SLF. Oxidativní potenciál prvků v deionizované vodě je u většiny prvků vyšší než při použití Gamblova roztoku (1,3–13,2krát) a SAF (1,4–5,6krát). Největší rozdíly mezi oxidativním potenciálem v závislosti na použité SLF byl změřen pro Fe^{2+} , kdy byl oxidativní potenciál 13,2krát (SAF) a 5,6krát (GS) menší

než v deionizované vodě; a Mn^{2+} , kdy byl oxidativní potenciál 4,8krát (SAF) a 4,0krát (GS) menší než v deionizované vodě. Podobný oxidativní potenciál ve všech SLF byl změřen pro Ni^{2+} , Fe^{3+} a Pb^{2+} . Ve všech SLFs byly reaktivní pouze Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , V^{5+} , Cr^{3+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , As^{+V} .

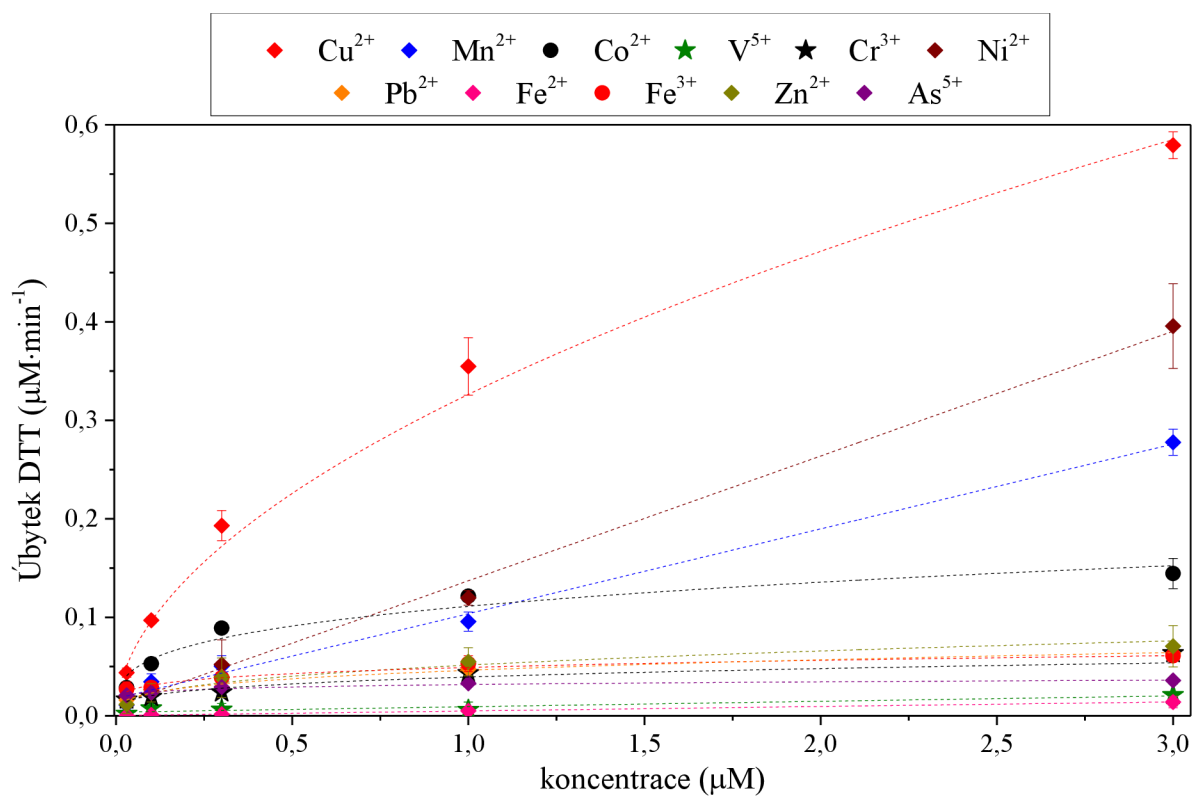
Z jedenácti prvků, které způsobovaly měřitelný úbytek DTT, byly ve všech SLF nejreaktivnější Cu^{2+} a Mn^{2+} . Vzhledem k jejich relativně vysoké koncentraci ve vzorcích a dobré biodostupnosti lze předpokládat, že oba ionty (Cu^{2+} a Mn^{2+}) patří mezi hlavní složky PM zodpovědné za oxidaci DTT. Oxidace DTT působením železitých a železnatých iontů je sice menší, ovšem koncentrace Fe v ovzduší bývají často vysoké, a proto může oxidace DTT ionty železa hrát velmi důležitou roli při tvorbě ROS po vdechnutí částice. Malá reaktivita Cd^{2+} v deionizované vodě a jeho neměřitelné ovlivnění DTT-aktivity v Gamblově roztoku a SAF spolu s jeho nízkými koncentracemi v obou frakcích PM dělá z Cd pravděpodobně nejméně nebezpečný kov pro lidský organismus z hlediska generování ROS, ze všech v této práci potvrzených DTT aktivních prvků. Mezi reaktivitou různých oxidačních stupňů pro železo (Fe^{2+} a Fe^{3+}) není v deionizované vodě patrný žádný výrazný rozdíl, zatímco při použití dalších SLF dochází u Fe^{2+} k výraznému poklesu oxidativního potenciálu. Tyto výsledky naznačují, že složky Gamblova roztoku a SAF by mohly lépe komplexovat s železnatými ionty než s železitými.

Pro lepší porozumění úbytku DTT v závislosti na prvku byla měřena rychlost úbytku DTT v závislosti na koncentraci daného prvku. Rychlost úbytku DTT pro jednotlivé prvky se lišila v rámci použitých SLFs. Pro většinu prvků v deionizované vodě byla tato závislost lineární (Obr. 31) s výjimkou Cu^{2+} , Mn^{2+} a As^{5+} , jejichž závislost byla mocninná. Při použití Gamblova roztoku a SAF byla pro většinu prvků závislost rychlosti úbytku DTT na koncentraci prvku mocninná (Obr. 31 a Obr. 32). Mechanismy vysvětlující rozdíly oxidativních potenciálů pro jednotlivé prvky a SLFs nejsou ještě plně pochopeny. Důvodem jsou různé oxidační stavy prvku ovlivňující reakce, ke kterým v roztocích dochází. Prvky v závislosti na různých matricích v PM mohou v SLF tvořit málo rozpustné komplexy nebo se rozpouštět za vzniku iontů, což může výrazně ovlivnit rychlost úbytku DTT [236]. Například Li a kol. (2018) zjistili interakci mezi některými ionty (Zn^{2+} a Fe^{3+}) a DPPC vedoucí ke tvorbě komplexů kation-DPPC, které by mohly snížit množství redox-aktivních prvků interagujícími s DTT [237]. Citrát obsažený v Gamblově roztoku je silným chelatačním činidlem, které váže primárně ionty dvojmocných a trojmocných prvků (Me^{2+} , Me^{3+}), čímž by mohlo docházet ke tvorbě komplexů, a tudíž nižší možné interakci DTT s kovy.

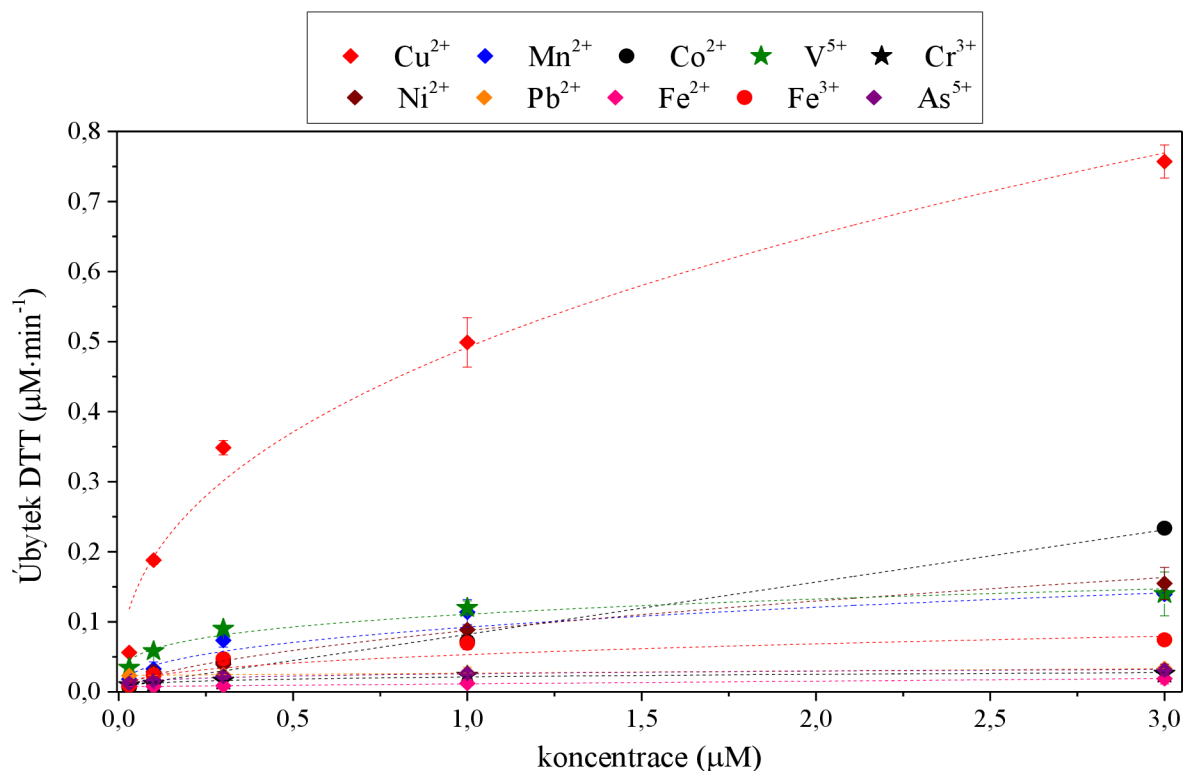
Důvod nelineární oxidace DTT v deionizované vodě pomocí Cu^{2+} a Mn^{2+} , kdy se oxidace stává méně účinnou při vyšších koncentracích kovů, zatím není plně objasněn. Jedním z faktorů může být schopnost kovů vázat se na DTT za vzniku málo rozpustného komplexu kov-DTT [238]. Kachur a kol. (1997) popsal mechanismus oxidace DTT, kdy dochází ke vzniku komplexu Cu-DTT, který ovlivňuje oxidaci DTT. Vznik komplexu je pravděpodobnější s narůstající koncentrací kovu při konstantní koncentraci DTT [239]. V rámci této práce není ovlivnění DTT oxidace vazbou kov-DTT významné, jelikož dle výsledků reálných vzorků jsou koncentrace studovaných kovů nízké a k tvorbě této vazby pravděpodobně nedochází.



Obr. 31: Závislost rychlosti úbytku DTT na koncentraci jednotlivých prvků v deionizované vodě.



Obr. 32: Závislosti rychlosti úbytku DTT na koncentraci jednotlivých prvků v SAF.



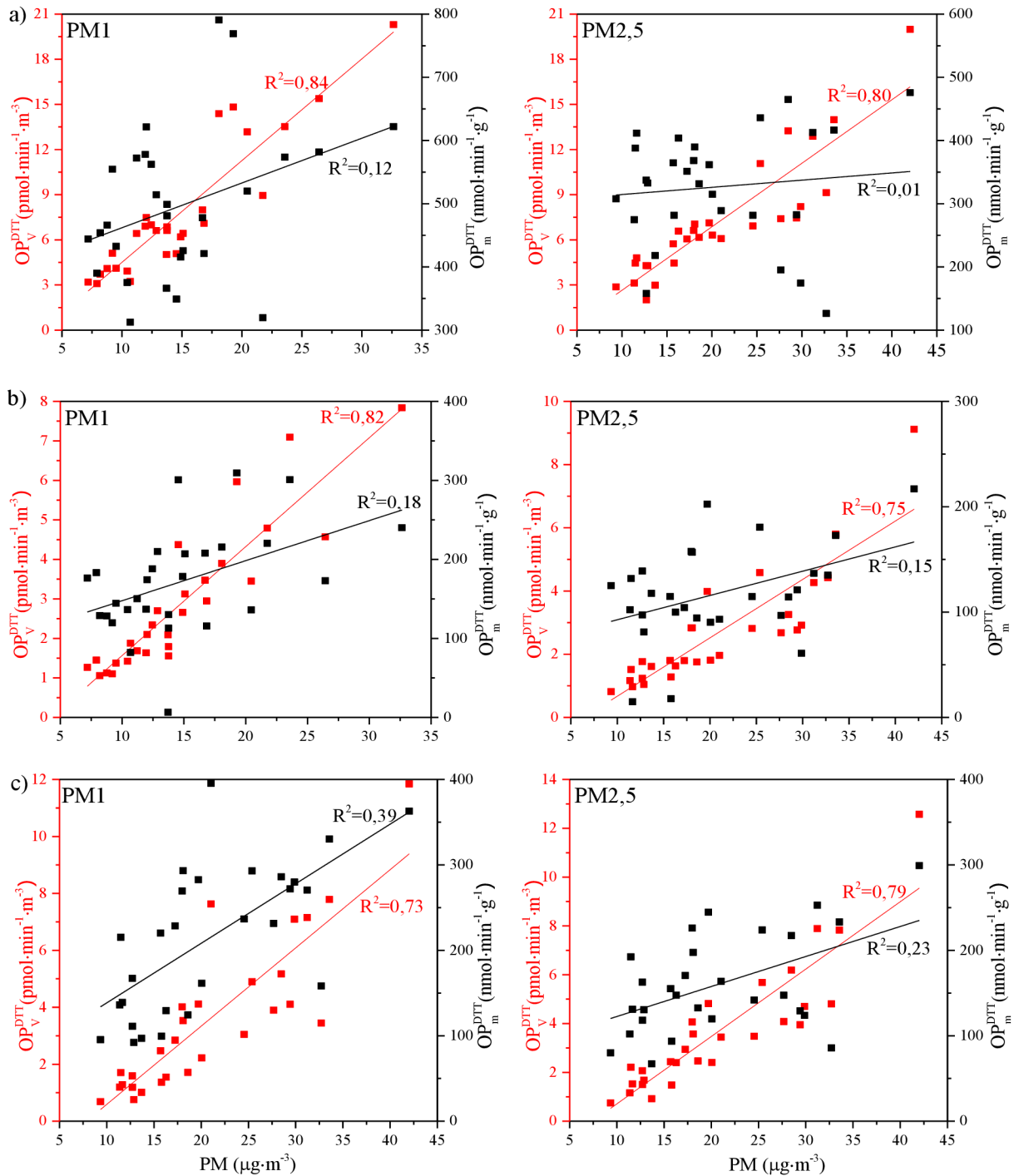
Obr. 33: Závislosti rychlosti úbytku DTT na koncentraci jednotlivých prvků v Gamblově roztoku.

5.5.2 Oxidativní potenciál reálných vzorků

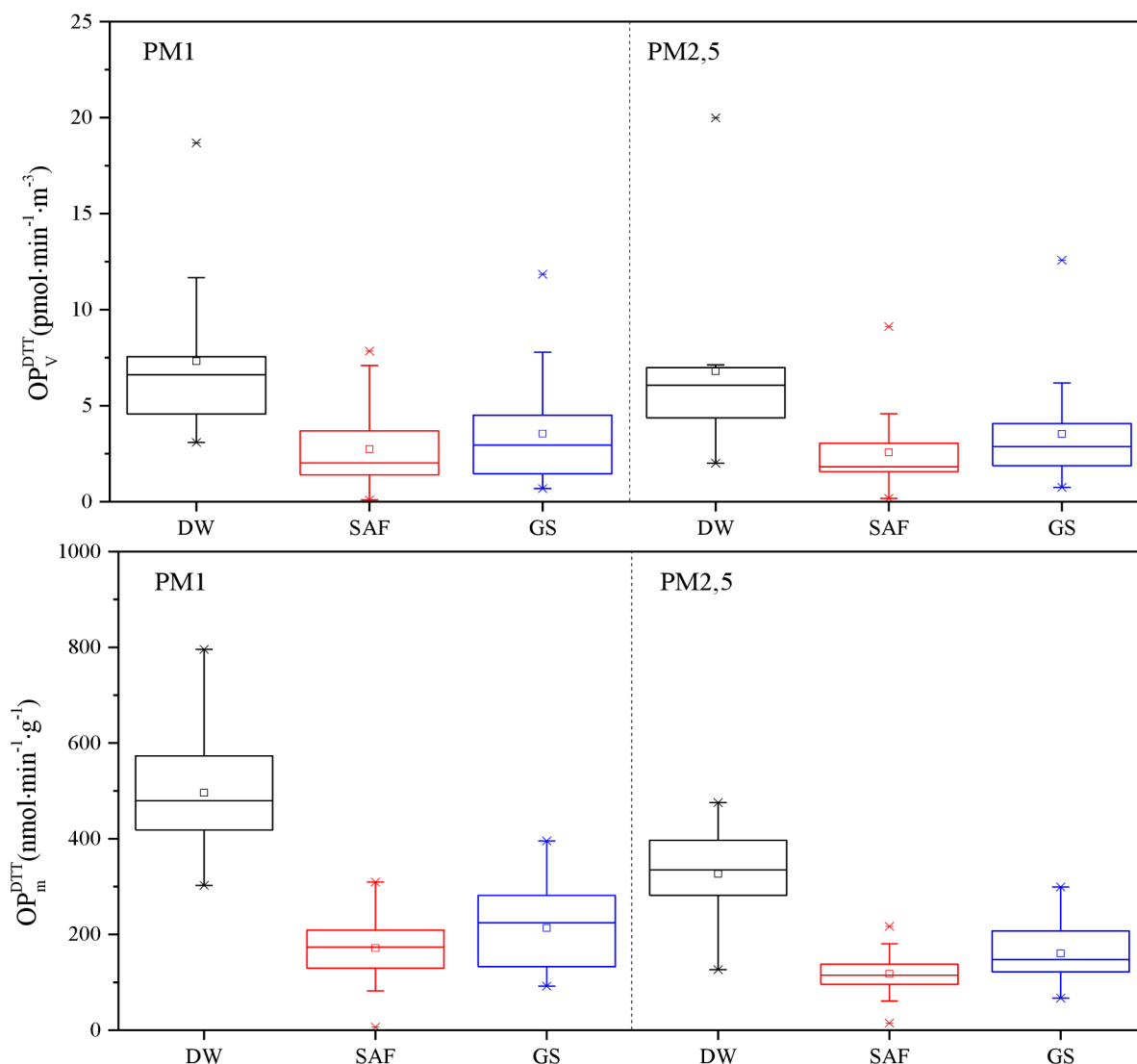
Výsledný oxidativní potenciál vzorků jemné i submikronové frakce PM byl normalizován dvěma způsoby: objemově (OP_V^{DTT} , $\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$) a hmotnostně (OP_m^{DTT} , $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$). OP normalizovaný na objem vzduchu představuje míru OP souvisejícího s expozicí aerosolu. Charakterizuje průměrný oxidativní potenciál na m^3 vzduchu, v němž jsou dané částice suspendovány, a je důležitějším měřítkem pro epidemiologické studie, jelikož odráží skutečnou expozici redox-aktivními složkami PM po inhalaci aerosolu [179]. OP normalizovaný na hmotnost PM představuje míru oxidativního potenciálu související spíše s velikostí a složením PM a používá se při zhodnocení míry OP pro jednotlivé zdroje PM [240][241]. Přestože hodnoty OP_m^{DTT} poskytují kontrastnější rozdíl oxidativního potenciálu pro různé velikosti částic, potenciál částic aerosolu působit negativně na lidské zdraví závisí více na objemu inhalovaného vzduchu (OP_V^{DTT}) [242][243].

Při porovnání vztahu hmotnostní koncentrace PM_{2,5} a PM₁ s OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} (Obr. 34) bylo zajímavé, že OP_V^{DTT} se lineárně zvyšoval s hmotnostní koncentrací částic (R^2 pro PM₁ v rámci jednotlivých SLF bylo v rozmezí 0,82 až 0,85, R^2 pro PM_{2,5} bylo v rozmezí 0,75 až 0,80), zatímco OP_m^{DTT} vykazoval relativně vysoký rozptyl hodnot oxidativního potenciálu pro vzorky s podobnými hmotnostními koncentracemi částic (R^2 pro PM₁ v rámci jednotlivých SLF bylo v rozmezí 0,12 až 0,45, R^2 pro PM_{2,5} bylo v rozmezí 0,01 až 0,25). Lineární závislost OP_V^{DTT} v průběhu jednotlivých kampaní je možné spojit se změnami hmotnostních koncentrací PM, kdy lze očekávat, že s narůstající hmotnostní koncentrací částic bude narůstat i koncentrace redox-aktivních složek, které způsobují oxidativní potenciál. Ovšem nelineární závislost OP_m^{DTT} ukazuje, že OP kromě hmotnostní koncentrace částic závisí i na jejich chemickém složení. Pokud by bylo OP_m^{DTT} na složení částic nezávislé, tak by pro

podobné hmotnostní koncentrace aerosolu byl OP_m^{DTT} velmi podobný nebo stejný. Toto porovnání potvrzuje, že výpočet OP_m^{DTT} lépe reprezentuje aktivitu DTT v rámci chemického složení částic aerosolu. Avšak při zaměření se na dávku částic, která se při vdechnutí dostane do lidského respiračního systému, je výpočet OP_V^{DTT} nezbytný, jelikož množství částic bude záviset na objemu vdechovaného aerosolu. Negativní účinky aerosolu na zdraví tedy nelze spojovat pouze s hmotnostní koncentrací PM, ale je zapotřebí studovat i jejich složení [244].



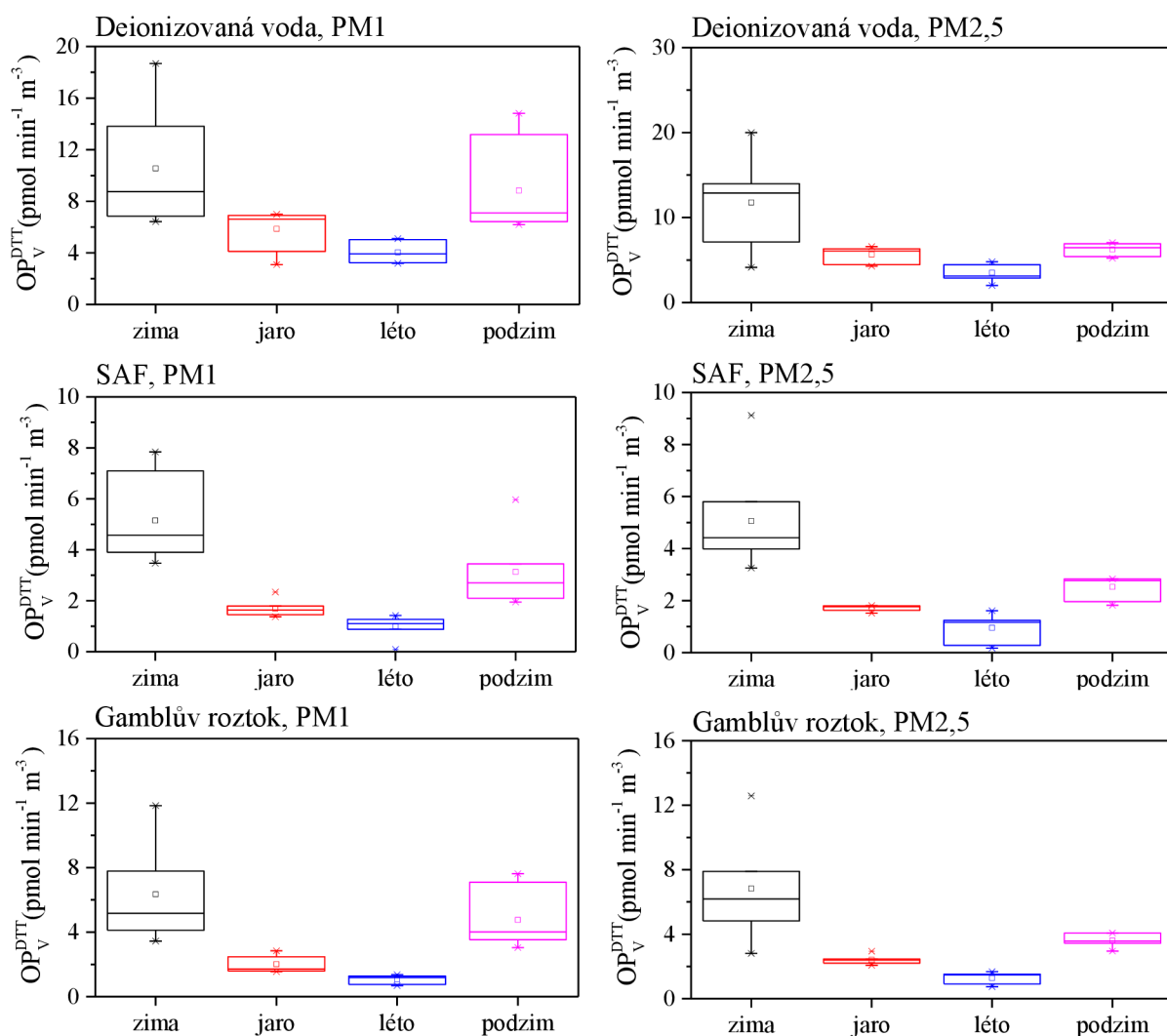
Obr. 34: Závislost OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} v a) DW, b) SAF a c) GS na hmotnostní koncentraci PM1 a PM2,5 aerosolu.



Obr. 35: Srovnání hodnot průměrného OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} pro submikronovou (PM1) a jemnou (PM2,5) frakci aerosolu ve zkoumaných simulovaných plicních tekutinách.

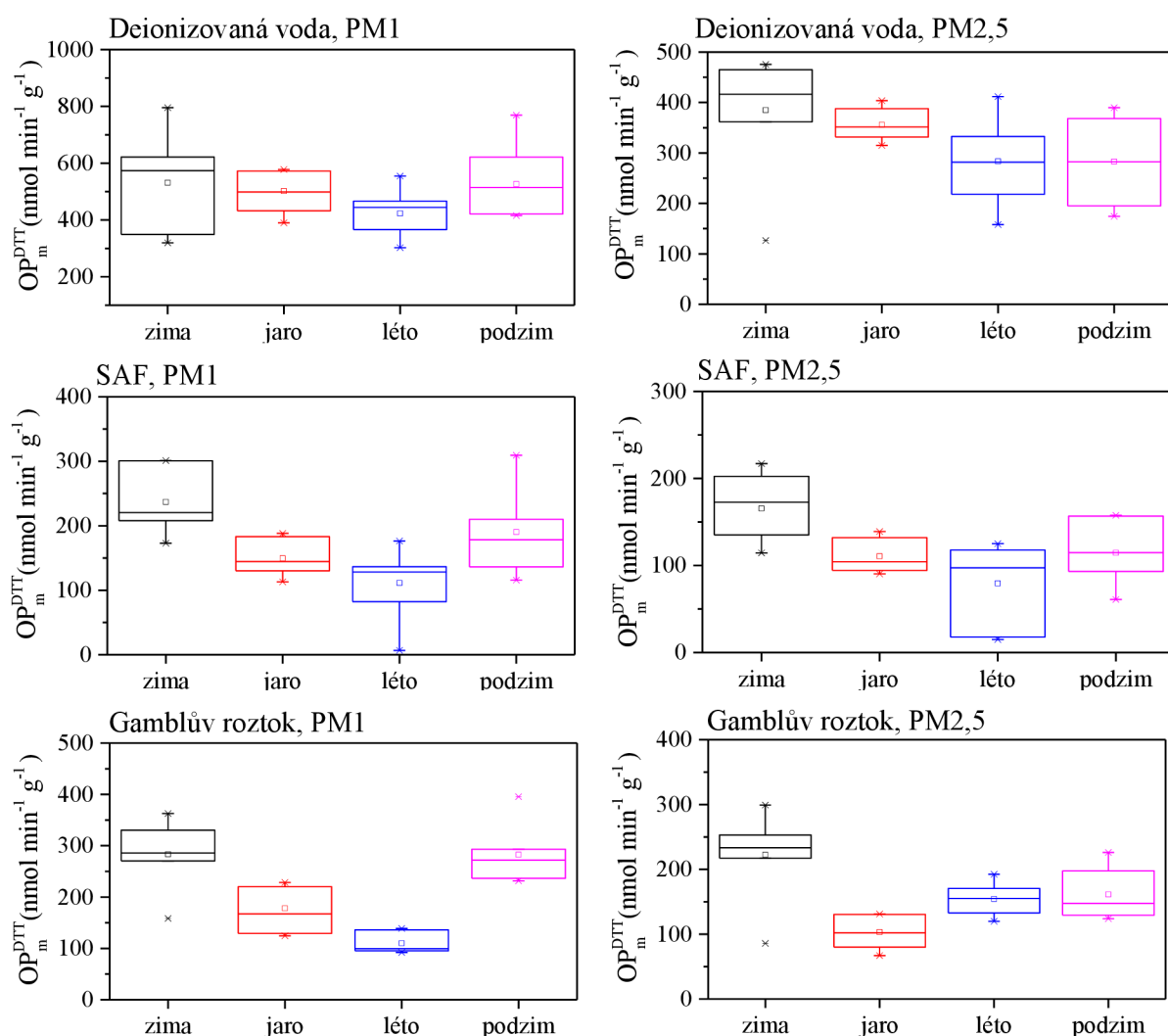
Na Obr. 35 je zobrazeno porovnání průměrných hodnot OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} všech vzorků odebraných v průběhu čtyř vzorkovacích kampaní ve třech různých SLF pro PM1 a PM2,5 částice. Průměrné hodnoty OP_V^{DTT} byly mírně vyšší u vzorků submikronové frakce (DW = $7,67 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$, SAF = $2,74 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$, GS = $3,55 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$) než u vzorků jemné frakce (DW = $6,79 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$, SAF = $2,57 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$, GS = $3,54 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$). Při porovnání OP_m^{DTT} pro jednotlivé frakce byly rozdíly mezi submikronovou a jemnou frakcí výrazně vyšší. Průměrné hodnoty OP_m^{DTT} u vzorků submikronové frakce (DW = $496 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, SAF = $172 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, GS = $214 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) byly vyšší než u vzorků jemné frakce (DW = $327 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, SAF = $118 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, GS = $160 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$). Tyto výsledky naznačují, že submikronová frakce obsahuje vyšší koncentrace redox-aktivních sloučenin, na které je DTT test citlivý. Submikronová frakce zejména v průběhu zimního období obsahuje větší podíl produktů různých spalovacích procesů (spalování uhlí a biomasy) [216][245], což znamená, že nárůst OP_{DTT} v zimě koresponduje se zimními koncentracemi produktů spalování [179].

Při srovnání OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} v rámci jednotlivých SLF je patrné, že v obou velikostních frakcích aerosolu bylo nejvyšších hodnot oxidativního potenciálu dosaženo v deionizované vodě. Hodnoty OP v SAF a Gamblově roztoku jsou srovnatelné. Podobný rozdíl v deionizované vodě a Gamblově roztoku byl pozorovaný ve studii Calas a kol., 2017, kde OP částic extrahovaných do deionizované vody vykazoval systematicky vyšší hodnoty než OP při extrakci částic do Gamblova roztoku [227]. Nižší výsledky OP_V^{DTT} v Gamblově roztoku ve srovnání s deionizovanou vodou mohou být způsobeny citrátem, který je silným chelatačním činidlem. Citrát je přidáván do Gamblova roztoku jako náhrada proteinů [246], pro zabránění pění [247] a také může nahrazovat antioxidanty, které jsou přítomné v extracelulární tekutině dýchacího systému (mucin, kyselina močová, albumin, kyselina askorbová a redukovaný glutathion) [248][249]. Chelatací kovu citrátem může být znemožněna interakce kovu s DTT, které by jinak vedla ke vzniku reaktivních sloučenin kyslíku. Rozdíl mezi OP v deionizované vodě a SAF byl pravděpodobně způsoben přítomností DPPC v SAF. Li a kol. (2018) zjistili interakci mezi některými ionty (Zn^{2+} a Fe^{3+}) a DPPC vedoucí ke tvorbě komplexů kation-DPPC. Vznikem komplexu kov-DPPC se snižuje množství redox-aktivních prvků, které by mohly interagovat s DTT za vzniku ROS, což snižuje oxidativní potenciál vzorku [237].



Obr. 36: Sezónní změny OP_V^{DTT} v jednotlivých SLFs.

OP_V^{DTT} vykazoval téměř stejný trend sezónních rozdílů mezi jednotlivými kampaněmi (Obr. 36) ve všech SLF a obou velikostních frakcích aerosolu. Hodnoty OP_V^{DTT} u většiny simulovaných plicních tekutin byly nejvyšší v zimě a nejnižší v létě. Výraznější sezónní trend OP_V^{DTT} je patrný pro Gamblův roztok a SLF, kdy byl oxidativní potenciál v obou velikostních frakcích aerosolu v zimě 5–6krát vyšší než v létě. U vzorků PM1 a PM2,5 extrahovaných do deionizované vody byl OP_V^{DTT} v zimě vyšší 3krát oproti létu. Vyšší OP_V^{DTT} v průběhu zimní a podzimní kampaně ve srovnání s letní a jarní kampaní potvrzuje, že nárůst OP_V^{DTT} v zimě lze spojit s emisemi z vytápění domácností. Oxidativní potenciál je ovlivněn koncentrací a chemickým složením PM, které se v průběhu roku mění, v závislosti na rozdílných zdrojích emisí částic do ovzduší. V chladnějších částech roku (zima, podzim) dochází například v důsledku vytápění domácností ke zvýšení emisí ze spalování, které zvyšují oxidativní potenciál PM [216][218]. Nízké hodnoty OP_V^{DTT} na jaře a v létě lze vysvětlit poklesem intenzity spalování a absencí intenzivních lokálních emisních zdrojů.



Obr. 37: Sezónní změny OP_m^{DTT} v jednotlivých SLFs.

Na Obr. 37 jsou znázorněny sezónní závislosti OP_m^{DTT} . Ve srovnání s OP_V^{DTT} jsou sezónní závislosti OP_m^{DTT} méně výrazné. V případě deionizované vody je v obou velikostních frakcích aerosolu OP_m^{DTT} v zimě přibližně 1,3krát vyšší než OP_m^{DTT} v létě. V Gamblově roztoku a SAF

je v zimě OP_m^{DTT} 2,2krát vyšší než v létě. Tento trend je velmi podobný hmotnostním koncentracím PM1 a PM2,5 částic, které byly v zimě vyšší přibližně 2,3krát než v létě. Výsledné hodnoty OP_m^{DTT} pro jednotlivé sezóny podporují zjištění, že je OP aerosolu ovlivněn koncentrací a složením částic v ovzduší, které se v průběhu jednotlivých ročních období mění.

5.5.2.1 Korelace prvků s oxidativním potenciálem

Pro přesnější identifikaci prvků způsobující OP byly spočítány Pearsonovy korelační koeficienty mezi objemově a hmotnostně normalizovaným OP_{DTT} a koncentrací prvků, které byly v částicích stanovovány. Korelační hodnoty pro celkové koncentrace prvků s OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} jsou uvedeny v Tab. 10 a Tab. 11. Statisticky významné korelace ($r > \pm 0,37$, hladina významnosti 0,05) jsou zvýrazněné tučným písmem.

Hmotnostně i objemově normalizovaný oxidativní potenciál silně ($r \geq 0,70$) koreloval s hmotnostní koncentrací PM ve všech SLF. OP_V^{DTT} i OP_m^{DTT} pozitivně korelují s většinou prvků i sumou celkových koncentrací všech měřených prvků. Pro většinu studovaných SLFs OP_V^{DTT} i OP_m^{DTT} obou velikostních frakcí aerosolu silně koreluje s prvky pocházejícími ze spalování uhlí nebo biomasy (hlavně dřeva) v rámci vytápění domácností (Pb, K, As, Zn, Cd). Střední až silné pozitivní korelace byly také vypočítány pro produkty průmyslových procesů a dopravy (Sn, Co, Cu, Mn a Ni). Korelace některých prvků s OP se ve studovaných frakcích aerosolu lišila (Ca, Sb, Na a Se). Tyto rozdíly pravděpodobně souvisejí s rozdílnými zdroji těchto prvků, které byly způsobeny sezónními rozdíly v koncentracích prvků v PM1 a PM2,5 aerosolu. Překvapivé byly statisticky nevýznamné korelační hodnoty pro Fe, které je potvrzeným redox-aktivním kovem [72][167]. Nízká korelace mezi oxidativním potenciálem a Fe může být způsobena sezónními změnami koncentrace Fe v průběhu vzorkovacích kampaní. Zatímco OP_V^{DTT} je vyšší v zimě nebo na podzim, celkové koncentrace Fe jsou vyšší v létě a na jaře, jelikož Fe primárně pochází z resuspenze prachu zemské kůry. Stejný trend byl pozorován také u dalších prvků pocházejících primárně ze zemské kůry (např. Ca, Al, Mg, Ti a Ba). Korelační hodnoty těchto prvků byly pozitivní pro PM2,5 frakci, zatímco u PM1 frakce, která je emitována převážně během spalovacích procesů, byly tyto korelace záporné [163].

Kromě redox-aktivních prvků byla také pozorována pozitivní závislost OP_V^{DTT} i OP_m^{DTT} na koncentraci některých neredox-aktivních kovů (Na a K). Silná korelace těchto prvků s oxidativním potenciálem je pravděpodobně způsobena jinými redox-aktivními složkami, které jsou emitovány paralelně s Na a K. K^+ se často používá jako chemický marker pro spalování biomasy, která je více spalována v chladnějších ročních obdobích. OP_V^{DTT} i OP_m^{DTT} s celkovou koncentrací draslíku pozitivně koreloval v obou velikostních frakcích, přičemž vyšší hodnoty korelace byly vypočítány pro PM1 frakci. PM související se spalováním biomasy také obsahuje zvýšené koncentrace redox-aktivních chinonů nebo polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs)[163]. Závislost DTT aktivity na koncentraci K tedy pravděpodobně představuje DTT aktivitu redox-aktivních organických sloučenin jako jsou chinony a PAHs. OP_V^{DTT} i OP_m^{DTT} významně korelovaly s celkovou koncentrací Na spíše v PM2,5 frakci, což bylo pravděpodobně způsobeno zvýšenou koncentrací Na v zimě kvůli aplikaci posypové soli (tj. NaCl) na silnice pro zimní údržbu komunikací [250]. Rozdílné

korelace oxidativního potenciálu s Na byly způsobeny rozdílnými zdroji Na v částicích. Zatímco Na v PM_{2,5} je emitován převážně posypovou solí, sodík vázaný na PM₁ je emitován domácím spalováním a vysokoteplotními procesy [250][251]. Pozitivní korelace DTT aktivity se sodíkem resuspendovaným z posypových solí použitých na zimní údržbu komunikací pravděpodobně představuje DTT aktivitu ostatních redox-aktivních složek přítomných v pouličním prachu (přechodné kovy a organické sloučeniny) resuspendovaných souběžně se sodíkem.

Pro výsledky korelace mezi OP_V^{DTT} a celkovými koncentracemi prvků nebyl zaznamenán žádný výrazný vliv použité SLF, zatímco korelace OP_m^{DTT} s některými prvky se výrazně lišila mezi jednotlivými SLF. Největší rozdíly byly znamenány v PM_{2,5} frakci mezi měřeními v deionizované vodě a ostatními SLFs, což si lze vysvětlit nevýraznou sezónní závislostí OP_m^{DTT} v deionizované vodě, která je popsána výše. Výsledné korelace mezi OP_V^{DTT} a celkovými koncentracemi aerosolu v PM_{2,5} pro Gamblovův roztok a SAF jsou srovnatelné.

Korelační hodnoty mezi OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} s biodostupnými koncentracemi prvků (Tab. 12 a Tab. 13) byly vypočítány, jelikož příspěvek rozpustné frakce k oxidativnímu potenciálu je mnohem vyšší než příspěvek nerozpustné frakce [171][178]. Při porovnání korelací OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} s celkovými koncentracemi prvků a biodostupnými koncentracemi prvků jsou patrné výrazné rozdíly. Suma biodostupných koncentrací měřených prvků silně korelovala s OP ve všech SLF (kromě OP_V^{DTT} pro PM₁ a OP_m^{DTT} pro PM_{2,5} v deionizované vodě). Pro všechny prvky pocházející primárně z emisí vznikajících při spalování uhlí, dřeva a biomasy v rámci vtápění domácností (Pb, K, As, Zn, Cd) byly i v případě stanovení korelací mezi OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} s biodostupnými koncentracemi prvků pozorovány významné korelace. Pro další prvky pocházející z antropogenních zdrojů (Sn, Mn, Co a Cu), se již korelační hodnoty měnily, ale stále se ve většině SLF jednalo o významné korelace. U kovů s nízkou rozpustností v SLF (např. Fe) je výsledný OP ovlivněn nejen koncentrací daného kovu, ale také dalšími parametry, jako je rozpouštění kovu vlivem ligand-kov interakcí nebo oxidačním stavem prvku [252]. Zajímavá byla změna korelace biodostupné frakce Cu, kdy u vzorků extrahovaných do deionizované vody a Gamblova roztoku došlo k výraznému poklesu korelačních hodnot, zatímco u vzorků extrahovaných do SAF byly korelační hodnoty stále vysoké. Tento rozdíl mohl být způsoben větším dopadem nerozpustné frakce Cu na oxidativní potenciál při použití deionizované vody nebo Gamblova roztoku jako extrakčních činidel [227][253].

Hodnoty korelací mezi OP_V^{DTT} i OP_m^{DTT} s biodostupnými koncentracemi prvků naznačují, že velikostní frakce PM a složení extrakčních tekutin mají zásadní vliv na korelaci mezi OP_{DTT} a některými prvky (V, Co, Cu, Fe, Ni, Cr, Ti, Se, Ba). Fe, V a Co vykazovaly silnější korelaci mezi biodostupnou koncentrací prvků a OP v jemné frakci aerosolu než v submikronové, přestože biodostupnost těchto kovů je vyšší v submikronové frakci. Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky z jiné studie [254], kde byla popsána závislost příspěvku Fe oxidativnímu stresu na velikosti částic. Silnější korelace Fe v PM_{2,5} frakci může být způsobena skutečností, že Fe v aerosolových částicích větších než 1 μm výrazněji ovlivňuje vznik ROS.

Tab. 10: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_V^{DTT} a celkovou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci. Statisticky významné korelace ($r \geq \pm 0,37$) jsou zvýrazněny tučným písmem.

	PM1			PM2,5		
	DW	SAF	GS	DW	SAF	GS
PM	1,00	1,00	0,99	0,95	0,97	0,98
Cd	0,96	0,97	0,92	0,98	0,99	1,00
Pb	1,00	0,99	0,99	0,89	0,93	0,94
K	0,98	0,96	0,96	0,83	0,85	0,87
As	0,83	0,88	0,79	0,92	0,96	0,96
Zn	0,97	0,94	0,96	0,69	0,75	0,77
Sn	0,87	0,83	0,84	0,81	0,79	0,81
Cu	0,80	0,77	0,75	0,73	0,72	0,74
Co	0,81	0,81	0,73	0,66	0,57	0,57
Ni	0,68	0,73	0,59	0,87	0,81	0,80
Mn	0,61	0,61	0,52	0,65	0,57	0,57
Cr	0,36	0,27	0,37	0,53	0,48	0,50
Se	0,21	0,26	0,09	0,95	0,95	0,96
Na	0,13	0,06	0,09	0,96	0,93	0,92
V	0,08	0,08	-0,02	0,48	0,38	0,37
Ba	-0,19	-0,21	-0,29	0,29	0,18	0,17
Mg	-0,34	-0,37	-0,42	0,24	0,12	0,11
Fe	-0,26	-0,28	-0,35	0,20	0,09	0,09
Ca	-0,70	-0,71	-0,76	0,46	0,36	0,33
Ti	-0,45	-0,45	-0,54	0,22	0,10	0,09
Al	-0,39	-0,40	-0,47	0,06	-0,05	-0,06
Sb	-0,72	-0,66	-0,69	-0,53	-0,51	-0,53
Σ prvků	0,44	0,40	0,37	0,66	0,58	0,58

Tab. 11: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_m^{DTT} a celkovou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci. Statisticky významné korelace ($r \geq \pm 0,37$) jsou zvýrazněny tučným písmem.

	PM1			PM2,5		
	DW	SAF	GS	DW	SAF	GS
PM	0,83	0,99	0,92	0,56	0,95	0,96
Cd	0,79	0,96	0,81	0,64	0,97	0,97
Sn	0,97	0,91	0,88	0,68	0,87	0,92
Cu	0,93	0,84	0,79	0,57	0,80	0,86
Co	0,78	0,83	0,66	0,95	0,71	0,73
Pb	0,86	1,00	0,94	0,44	0,90	0,91
K	0,93	0,99	0,94	0,47	0,87	0,91
Zn	0,95	0,98	0,96	0,38	0,85	0,88
Mn	0,68	0,65	0,47	0,92	0,71	0,74
Ni	0,43	0,68	0,38	0,98	0,88	0,86
As	0,43	0,80	0,56	0,47	0,89	0,87
Cr	0,81	0,43	0,62	0,63	0,63	0,69
Se	0,16	0,24	-0,05	0,73	0,98	1,00
Na	0,61	0,21	0,31	0,91	0,97	0,96
V	0,33	0,15	0,00	0,89	0,54	0,56
Ba	0,15	-0,13	-0,21	0,79	0,35	0,38
Mg	0,08	-0,27	-0,29	0,79	0,29	0,29
Fe	0,10	-0,19	-0,26	0,74	0,27	0,29
Ca	-0,35	-0,65	-0,66	0,89	0,46	0,46
Ti	-0,13	-0,39	-0,48	0,79	0,26	0,26
Al	-0,01	-0,32	-0,37	0,66	0,13	0,15
Sb	-0,97	-0,77	-0,81	-0,52	-0,63	-0,71
Σ prvků	0,76	0,51	0,48	0,93	0,73	0,75

Tab. 12: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_V^{DTT} a biodostupnou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci. Statisticky významné korelace ($r \geq \pm 0,37$) jsou zvýrazněny tučným písmem.

	PM1			PM2,5		
	DW	SAF	GS	DW	SAF	GS
Cd	0,98	0,96	0,99	0,89	1,00	0,96
Pb	0,98	1,00	0,99	0,68	0,94	0,88
Zn	0,96	0,93	0,97	0,75	0,79	0,80
As	0,80	0,86	0,80	0,79	0,91	0,97
Mn	0,85	0,93	0,92	0,85	0,82	0,91
Sn	0,84	0,95	0,98	0,96	0,91	0,98
Sb	0,77	0,73	0,79	0,77	0,90	0,60
Co	0,05	0,99	0,75	-0,09	0,99	0,96
Cr	0,93	0,61	0,94	0,30	0,56	0,52
Fe	0,23	0,85	0,22	0,48	0,96	0,66
Cu	0,15	0,87	-0,35	0,17	0,83	0,32
V	-0,49	0,70	-0,43	0,45	0,88	0,61
Ti	-0,30	0,16	0,34	-0,07	0,44	0,43
Se	0,28	-0,10	-0,43	-0,17	0,27	0,59
Al	-0,45	0,08	-0,50	-0,17	0,39	0,16
Ni	-0,82	0,17	-0,24	-0,96	0,49	0,47
Ba	-0,61	-0,26		0,00	0,03	
Mg	-0,53	-0,58		-0,13	-0,10	
K	0,94			0,40		
Ca	0,15			0,67		
Na	0,13			0,95		
Σ prvků	0,63	0,97	0,93	0,88	0,99	0,99

Tab. 13: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_m^{DTT} a biodostupnou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci. Statisticky významné korelace ($r \geq \pm 0,37$) jsou zvýrazněny tučným písmem.

	PM1			PM2,5		
	DW	SAF	GS	DW	SAF	GS
Mn	0,94	0,93	0,82	0,99	0,91	0,98
Sb	0,99	0,82	0,93	0,55	0,93	0,67
Sn	0,53	0,98	0,90	0,60	0,87	0,91
Pb	0,92	0,98	0,98	0,70	0,98	0,82
Zn	0,95	0,95	0,98	0,69	0,73	0,80
Cd	0,91	0,95	0,97	0,45	0,98	0,93
As	0,40	0,77	0,73	0,33	0,82	0,91
V	-0,31	0,62	-0,60	0,80	0,85	0,62
Co	0,50	0,96	0,62	-0,24	1,00	1,00
Cu	0,65	0,81	-0,04	0,52	0,80	0,54
Fe	0,35	0,76	0,31	0,59	0,90	0,46
Ni	-0,51	0,05	-0,52	-0,63	0,85	0,35
Cr	0,60	0,53	0,90	-0,32	0,53	-0,28
Ti	-0,07	0,00	0,50	-0,68	0,52	0,62
Al	-0,01	0,10	-0,41	0,47	0,79	0,35
Se	0,31	-0,90	-0,68	-0,62	0,19	0,77
Ba	-0,20	-0,21		0,61	0,19	
Mg	-0,80	-0,55		0,53	0,02	
K	0,97			0,52		
Na	0,56			0,93		
Ca	0,19			0,79		
Σ prvků	0,85	0,94	0,83	0,52	0,99	0,96

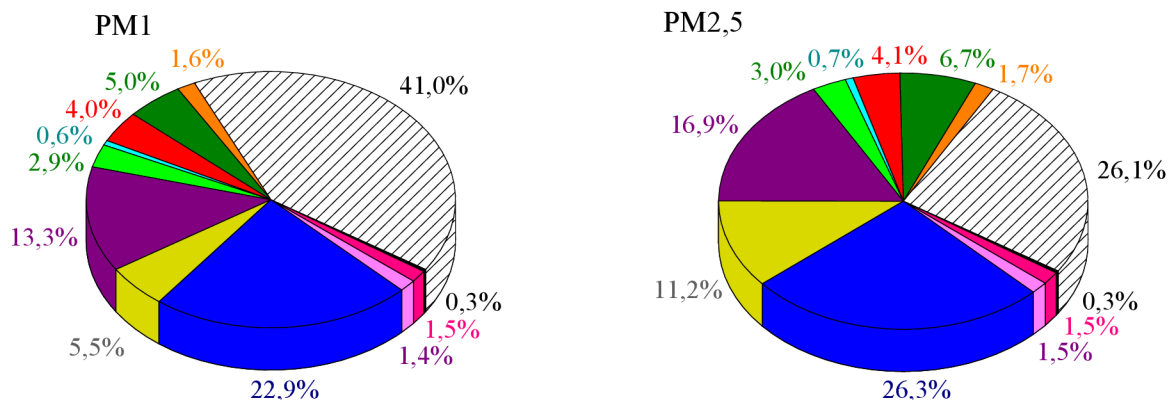
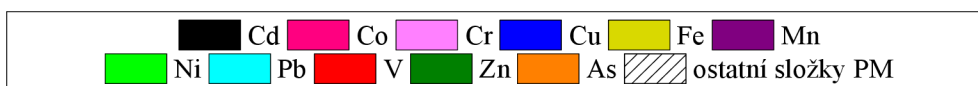
5.5.2.2 *Příspěvky rozpustných prvků k oxidativnímu potenciálu*

Pro kvantifikaci příspěvku přechodných prvků k oxidativnímu potenciálu pro vzorky PM1 a PM2,5 městského aerosolu byl vypočítán úbytek DTT s použitím naměřených rozpustných koncentrací As, Cu, Mn, Fe, V, Zn, Ni, Cd, Co, Cr, Pb. Rychlost úbytku DTT ve standardních roztocích jednotlivých přechodných prvků byla vypočítána pomocí regresních rovnic, které jsou popsány výše.

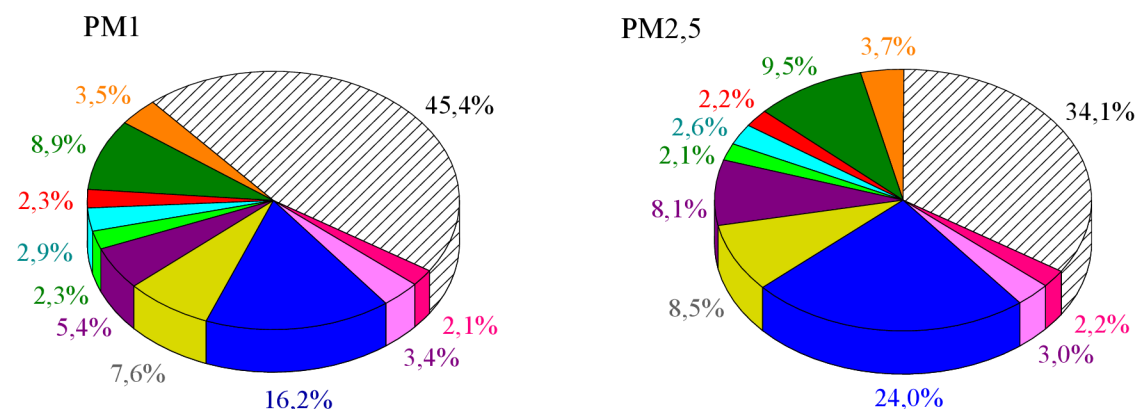
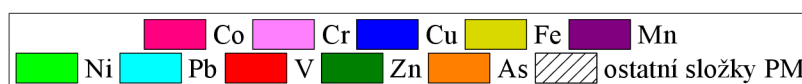
Příspěvky jednotlivých složek aerosolu k oxidativnímu potenciálu se lišily v závislosti na velikostní frakci aerosolu. Odhadovaný průměrný příspěvek jednotlivých prvků ke stanovenému oxidativnímu potenciálu pro vzorky jemné i submikronové frakce je zobrazen na Obr. 38, Obr. 39 a Obr. 40. Příspěvky prvků k oxidativnímu potenciálu byly proměnlivé v závislosti na použité simulované plicní kapalině. Předpokládaný průměrný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu v PM1 je 59,0 % (DW), 54,6 % (SAF) a 51,3 % (GS). V PM2,5 je předpokládaný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu 73,9 % (DW), 65,9 % (SAF) a 59,4 % (GS). Zbýlý oxidativní potenciál byl pravděpodobně způsoben dalšími redox-aktivními neidentifikovanými složkami aerosolu.

Příspěvky jednotlivých prvků ke změřenému oxidativnímu potenciálu byly ovlivněny složením SLFs. Ve všech SLFs měla největší podíl na stanoveném oxidativním potenciálu měď (Cu^{2+}), která tvořila 22,9 % (DW), 16,2 % (SAF), 17,5 % (GS) ze změřeného OP_{DTT} v PM1 a 26,3 % (DW), 24,0 % (SAF), 25,2 % (GS) v PM2,5. Dále k OP v obou velikostních frakcích aerosolu a ve všech SLFs výrazněji přispívaly mangan (Mn^{2+} ; 5,4–16,9 %) a železo (Fe^{3+} ; 5,5–11,5 %). Vyšší podíl příspěvku k OP byl zjištěn pro zinek (Zn^{2+} ; 5,0–9,5 %) v deionizované vodě a SAF a pro vanad (5,2 %) v Gamblově roztoku. Ostatní prvky k oxidativnímu potenciálu přispívaly v rozmezí 0,3–4,1 %. Vliv složení SLFs na oxidativní potenciál jednotlivých prvků je popsán v kapitolách výše.

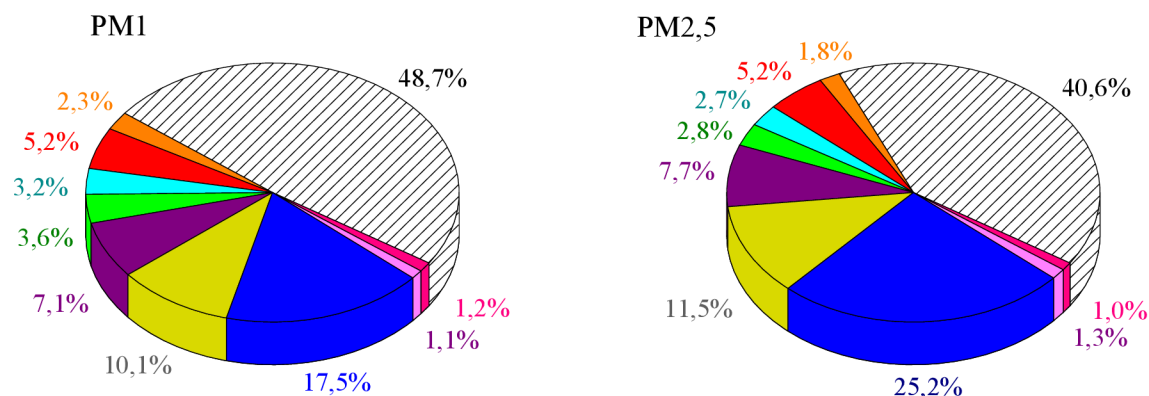
Ve všech studovaných simulovaných plicních tekutinách byl příspěvek neidentifikovaných složek aerosolu k oxidativnímu potenciálu v PM1 výrazně vyšší než v PM2,5. Neidentifikované složky aerosolu jsou pravděpodobně tvořeny organickými látkami (např. polycyklické aromatické uhlovodíky a chinony), které se podílí na oxidativním potenciálu PM [172]. Tyto látky vznikají primárně při spalovacích procesech (v rámci vytápění domácností, průmyslovou činností nebo emisí z pohonných hmot) [255], proto je jejich podíl v PM1 frakci vyšší než v PM2,5 frakci. Dále mohly k oxidativnímu potenciálu, zejména v jemné frakci, přispět nerozpustné frakce minerálního prachu a abrazivního prachu z brzd [256].



Obr. 38: Odhadovaný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu v submikronové a jemné frakci aerosolu v deionizované vodě.



Obr. 39: Odhadovaný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu v submikronové a jemné frakci aerosolu v SAF.



Obr. 40: Odhadovaný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu v submikronové a jemné frakci aerosolu v Gamblově roztoku.

6 ZÁVĚR

Městskému aerosolu je v poslední době věnována zvýšená pozornost, jelikož studium znečištění ovzduší ve městech patří mezi hlavní globální výzvy v oblasti životního prostředí. Pro účely této studie bylo zvoleno měření dvou velikostních frakcí městského aerosolu (PM1 a PM2,5), které prokazatelně pronikají do dýchacího ústrojí a mohou způsobit širokou škálu nežádoucích zdravotních komplikací vedoucích až k předčasné smrti. Hlavním cílem práce bylo přinést informace o celkových a biodostupných koncentracích prvků v městském aerosolu, kterým jsou obyvatelé města v průběhu roku vystaveni. Dalším cílem bylo stanovení oxidačního potenciálu částic aerosolu, který je považován za komplexnější indikátor škodlivosti než stanovení hmotnostní koncentrace PM.

V průběhu čtyř monitorovacích kampaní (od února do listopadu 2018) s odlišnými meteorologickými podmínkami byla v Brně vzorkována jemná a submikronová frakce městského aerosolu. Průměrná roční hmotnostní koncentrace městského aerosolu byla pro PM2,5 $20,8 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a pro PM1 $14,8 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Z výsledků vyplývá, že roční limity PM2,5 nebyly pravděpodobně v roce 2018 v Brně překročeny, přestože se hmotnostní koncentrace aerosolu měnila v průběhu různých ročních období. Největší rozdíly byly zaznamenány mezi zimní a letní kampaní, kdy byly hmotnostní koncentrace PM1 i PM2,5 v průběhu zimní kampaně více než dvojnásobné oproti letní kampani.

Celkem bylo v PM1 a PM2,5 frakci analyzováno 21 prvků. Suma koncentrací analyzovaných prvků představovala relativně malou část celkové hmotnostní koncentrace částic. Prvky bylo možné, podle jejich průměrných celoročních koncentrací, rozdělit do tří kategorií (dominantní, majoritní a minoritní), přičemž dominantní a majoritní kategorie byla tvořena převážně prvky, které se nacházejí v zemské kůře (Al, Fe, K, Na, Ca a Mg). Draslík měl nejvyšší průměrnou celoroční celkovou koncentraci v jemné i submikronové frakci a nejnižší průměrná celoroční koncentrace v obou frakcích byla zjištěna pro kobalt. Koncentrace prvků v průběhu kampaní byly proměnlivé, jelikož koncentrace prvků závisí na mnoha faktorech, které se v průběhu ročních období mění. Prvky pocházející z antropogenních zdrojů vykazovaly vyšší koncentrace v chladnějších ročních obdobích, zatímco prvky pocházející spíše z přírodních zdrojů vykazovaly vyšší koncentrace v průběhu teplejších ročních období. Také zastoupení jednotlivých prvků v rámci frakcí bylo proměnlivé. Prvky z antropogenních zdrojů byly více zastoupeny v PM1 frakci, zatímco kovy pocházející z přírodních zdrojů byly více zastoupeny v PM2,5 frakci.

Zdroje prvků byly určeny pomocí dvou metod (obohacovací faktor a pozitivní maticová faktorizace). Vysoké hodnoty obohacovacího faktoru ($EF >40$), naznačující antropogenní původ prvku, byly vypočítány pro As, Cd, Pb, S, Se, Sn a Zn. Velmi nízké hodnoty obohacovacího faktoru pro Al, Ba, Ca, Mg a Ti naznačovaly, že tyto kovy pocházejí primárně z resuspenze půdy. K detailní identifikaci zdrojů prvků v městském aerosolu byla použita metoda PMF, která stanovila tři faktory pro obě PM frakce se dvěma stejnými zdroji v obou frakcích (vytápění domácností a resuspenze silničního prachu). Vysoký příspěvek emisí z vytápění domácností ke složení částic PM1 a PM2,5 prokázal významný vliv spalování dřeva a uhlí v malých obcích v okolí Brna na znečištění ovzduší ve studované lokalitě. Druhým hlavním zdrojem znečištění ovzduší byla doprava, která významně přispívala hlavně

k PM_{2,5} frakci. Jako třetí zdroj pro PM_{2,5} frakci byly identifikovány oděry z dopravy a třetí zdroj pro PM₁ byl identifikován jako antropogenní pozadí.

Pro studium biodostupné frakce prvků a oxidativního potenciálu PM byly použity tři simulované plicní tekutiny (deionizovaná voda, Gamblovův roztok, SAF). Biodostupnosti prvků se lišily v závislosti na velikosti frakce aerosolu, době odběru PM v průběhu roku a složení plicních tekutin. Vyšší biodostupnost prvků v PM₁ frakci než v PM_{2,5} frakci potvrzuje, že PM₁ zasluhuje větší pozornost než PM s větší velikostí částic. Kromě schopnosti PM₁ frakce pronikat hlouběji do plic jsou složky PM₁ také více biodostupné, a proto představují vážnější zdravotní riziko než prvky vázané na větší částice. Účinnost extrakce prvků se lišila v závislosti na použité simulované plicní tekutině. Nejvíce se měnila biodostupnost vanadu a zinku, zatímco biodostupnost As, Cd, Mn, Fe, Cr, Sb a Se byla ve všech použitých SLF podobná. Bylo potvrzeno, že biodostupnost prvků závisí na jejich tendenci tvořit komplex, velikosti PM a složení extrakční tekutiny. Nedávno navržená simulovaná tekutina plicních sklípků by vzhledem k výsledkům měření mohla být zajímavou alternativou k běžně používanému Gamblovu roztoku. SAF obsahuje méně solí, její příprava je snadnější a lze ji použít k odhadu plicní biodostupnosti i pro větší počet prvků než Gamblovův roztok.

Oxidativní potenciál PM částic byl studován metodou DTT testu, kdy DTT reprezentuje fyziologické redukční látky a výsledný oxidativní potenciál částic byl normalizován dvěma způsoby: objemově (OP_V^{DTT} , $\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$) a hmotnostně (OP_m^{DTT} , $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$). Výsledky hmotnostně a objemově normalizovaného oxidativního potenciálu PM₁ a PM_{2,5} frakce naznačují, že DTT test je citlivější na redox-aktivní složky v submikronové frakci. OP_{DTT} obou velikostních frakcí aerosolu byl výrazně vyšší při extrakci filtrů do deionizované vody v porovnání s ostatními SLF. Nižší hodnoty oxidativního potenciálu v Gamblově roztoku a SAF byly pravděpodobně způsobeny interakcí mezi některými složkami tekutin (citrát, DPPC) a redox-aktivními složkami částic. Sezónní závislost oxidativního potenciálu potvrdila ovlivnění oxidativního potenciálu PM rozdílným složením částic aerosolu v zimě a v létě.

Pro detailnější identifikaci prvků ovlivňujících oxidativní potenciál částic byla měřena rychlost úbytku DTT pro standardní roztoky prvků a spočítány Pearsonovy korelační koeficienty mezi celkovou a biodostupnou koncentrací prvků v PM₁ a PM_{2,5} aerosolu. Měřením standardních roztoků prvků byl potvrzen příspěvek Cu, Mn, V, Co, Ni, Zn, Cr, Fe, Pb, Zn a As k oxidativnímu potenciálu. Z výsledků výpočtu příspěvku jednotlivých prvků k oxidativnímu potenciálu PM₁ i PM_{2,5} vyplývá, že k oxidativnímu potenciálu částic aerosolu mezi prvky nejvíce přispívá Cu, Mn, Fe a Zn. Hodnoty korelací biodostupné koncentrace jednotlivých prvků a normalizovaným oxidativním potenciálem naznačují, že velikostní frakce PM a složení extrakčních tekutin mají zásadní vliv na DTT-aktivitu redox-aktivních prvků v jednotlivých částicích.

7 SEZNAM ZKRATEK

AAS	Atomová absorpční spektroskopie
AFS	Atomová fluorescenční spektroskopie
ALF	Umělá lysozomální tekutina (Artificial Lysosomal Fluid)
CCD	Snímače s nábojovou vazbou (Charge Coupled Device)
CR	Riziko rakoviny (Cancer Risk)
ČHMÚ	Český hydrometeorologický ústav
DCF	dichlorofluorescein
DCFH	2',7'-dichlorofluorescein
DPPC	dipalmitoylfosfaditylcholin
DTNB	5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina
DTT	Dithiothreitol
DW	Deionizovaná voda
EC	expoziční koncentrace
ED	trvání expozice (Exposition Duration)
EDXRF	Energiově disperzní rentgenová fluorescence
EF	Obohacovací faktor
EF _{ZR}	Frekvence expozice (Exposition Frequency)
ESR	Elektron–spinová rezonance
ET	doba expozice (Exposition Time)
GS	Gamblův roztok
HPLC	Kapalinová chromatografie
HI	Index nebezpečnosti (Hazard Index)
HMI	High Matrix Introduction
HULIS	sloučeniny podobné huminovým kyselinám
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
IC	Iontová chromatografie
ICP	Indukčně vázané plasma
ICP-AES	Atomová emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
INAA	Neutronová aktivační analýza
LIBS	Laserem indukovaná plazmová spektroskopie
LS AAS	Čárový zdroj záření atomové absorpční spektroskopie
MS	Hmotnostní spektrometrie
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	nikotinadenindinukleotidfosfát

OP	oxidativní potenciál
OP _m ^{DTT}	hmotnostně normalizovaný oxidativní potenciál
OP _V ^{DTT}	objemově normalizovaný oxidativní potenciál
OSN	Organizace spojených národů
PAHs	polycyklické aromatické uhlovodíky
PCA	Analýza hlavních komponent (Principal Component Analysis)
PIXE	Protony indukovaná rentgenová fluorescence
PM	částice aerosolu (Particulate Matter)
PMF	Pozitivní maticová faktorizace (Positive Matrix Factorization)
PVC	polyvinylchlorid
RADIO	Radiometrie-absorpce beta záření
ROS	Reaktivní sloučeniny kyslíku (Reactive Oxygen Species)
RTLFL	Tekutina dýchacích cest (Respiratory Track Lining Fluid)
SAF	Simulovaná tekutina plicních sklípků (Simulated Alveoli Fluid)
SLF	Simulovaná plicní tekutina (Simulated Lung Fluid)
SLFs	Simulované plicní tekutiny
S-XRF	Synchrotronem indukovaná rentgenová fluorescence
TEOM	Oscilační mikrováhy (Trapeded Element Pscillating Microbalance)
TNB	2-nitro-5-thiobenzoová kyselina
TRXRF	Rentgenová fluorescence úplného odrazu
TSP	Celkové suspendované částice (Total Suspended Particles)
UIACH	Ústav analytické chemie Akademie věd v Brně
US EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie
XRF	Rentgenová fluorescence

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Vývoj průměrné celoroční koncentrace PM_{2,5} ze všech vzorkovacích stanic Českého hydrometeorologického ústavu (ČHMU) v Brně v průběhu 10ti let (upraveno podle dat ČHMU)

Obr. 2: Idealizované schéma distribuce částic atmosférického aerosolu. Zjednodušené reakční schéma, zdroje, formy a hlavní procesy vedoucí k odstranění jednotlivých velikostních skupin aerosolu z atmosféry [11].

Obr. 3: Místo depozice částic o různých velikostech do dýchací soustavy [9].

Obr. 4: Mechanismus oxidativního stresu způsobeného kovy [170].

Obr. 5: Schéma oxidace DTT redox-aktivními složkami PM.

Obr. 6: Blokové schéma atomového absorpčního spektrometru.

Obr. 7: Schéma přístroje ICP-MS [188].

Obr. 8: Schéma instrumentace UV-VIS spektrofotometru.

Obr. 9: Velkoobjemové vzorkovače a exponované filtry.

Obr. 10: Záznam termické křivky mineralizace.

Obr. 11: Foto vzorků před (a) a po (b) extrakci do Gamblova roztoku.

Obr. 12: Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS/MS 8800.

Obr. 13: Kalibrační grafy kovů pro a) deionizovanou vodu a b) SAF.

Obr. 14: Kalibrační grafy zinku pro a) deionizovanou vodu a b) SAF.

Obr. 15: Zařízení pro inkubaci vzorků při DTT testu.

Obr. 16: Ukázka neupravených DTT dat. Rychlost úbytku DTT vzorku byla stanovena pomocí regresních přímek vzorku a slepého pokusu.

Obr. 17: Průměrné hmotnostní koncentrace a směrodatné odchylky PM₁ a PM_{2,5} aerosolu ve všech kampaních roku 2018 v Brně.

Obr. 18: Hmotnostní koncentrace (PM₁ a PM_{2,5}) a teplota v průběhu studovaného období.

Obr. 19: Porovnání koncentrací PM_{2,5} z odběrového místa na UIACH s jinými odběrovými místy v Brně.

Obr. 20: Závislost koncentrace draslíku (ng·m³) na teplotě

Obr. 21: Poměry koncentrací studovaných prvků v PM₁ a PM_{2,5} v zimě (a) a v létě (b).

Obr. 22: Průměrné hodnoty EF pro jednotlivé prvky a PM frakce.

Obr. 23: Koncentrace prvků a příspěvky jednotlivých zdrojů ke koncentraci prvků v PM₁ a PM_{2,5} aerosolu.

Obr. 24: Příspěvky zdrojů ke koncentraci PM₁ a PM_{2,5} aerosolu v průběhu vzorkovacích kampaních.

Obr. 25: Porovnání biodostupnosti sumy studovaných prvků v deionizované vodě (DW), simulované tekutině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS) pro PM₁ a PM_{2,5}. Krabicová část grafu je shora ohraničena 3. kvartilem a zespodu 1. kvartilem, mezi nimi se nachází linie vymežující medián a čtverec označující průměr. Linie vycházející ze střední

části grafu kolmo nahoru a dolů vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem. Odlehle hodnoty jsou vykresleny jako jednotlivé body.

Obr. 26: Hodnoty biodostupnosti jednotlivých prvků v PM1 a PM2,5 v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS).

Obr. 27: Porovnání průměrné celoroční biodostupnosti prvků v PM1 a PM2,5 v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS).

Obr. 28: Průměrné hodnoty rizika rakoviny (CR) a expoziční koncentrace (EC) prvků vázaných na PM1 a PM2,5 částice. Hodnoty CR byly vypočítány pro děti (CH) a dospělé (A) s celkovými (T) a biodostupnými koncentracemi prvků v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS)

Obr. 29: Hodnoty indexu rizika (HI) a expozičních koncentrací (EC) vypočítané pro toxické prvky v PM1 a PM2,5 částicích pro celkové koncentrace (T) a biodostupné koncentrace prvků v deionizované vodě (DW), Simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS).

Obr. 30: Úbytek DTT ve standardních roztocích redox-aktivních prvků v deionizované vodě (DW), simulované kapalině plicních sklípků (SAF) a Gamblově roztoku (GS) korigovaný slepým pokusem. Koncentrace prvků byla ve všech případech 1 μM .

Obr. 31: Závislost rychlosti úbytku DTT na koncentraci jednotlivých prvků v deionizované vodě.

Obr. 32: Závislosti rychlosti úbytku DTT na koncentraci jednotlivých prvků v SAF.

Obr. 33: Závislosti rychlosti úbytku DTT na koncentraci jednotlivých prvků v Gamblově roztoku.

Obr. 34: Závislost OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} v a) DW, b) SAF a c) GS na hmotnostní koncentraci PM1 a PM2,5 aerosolu

Obr. 35: Srovnání hodnot průměrného OP_V^{DTT} a OP_m^{DTT} pro submikronovou (PM1) a jemnou (PM2,5) frakci aerosolu ve zkoumaných simulovaných plicních tekutinách.

Obr. 36: Sezónní změny OP_V^{DTT} v jednotlivých SLFs.

Obr. 37: Sezónní změny OP_m^{DTT} v jednotlivých SLFs.

Obr. 38: Odhadovaný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu v submikronové a jemné frakci aerosolu v deionizované vodě.

Obr. 39: Odhadovaný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu v submikronové a jemné frakci aerosolu v SAF.

Obr. 40: Odhadovaný příspěvek prvků k oxidativnímu potenciálu v submikronové a jemné frakci aerosolu v Gamblově roztoku.

9 SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Program rozkladu filtrů.

Tab. 2: Složení simulovaných plicních tekutin.

Tab. 3: Typické hodnoty parametrů ladění pro jednotlivé měřicí módy.

Tab. 4: Koefficient determinace kalibračních křivek pro celkové koncentrace jednotlivých prvků.

Tab. 5: Nastavení atomového absorpčního spektrometru.

Tab. 6: Hodnoty regresní rovnice a koeficientu determinace kalibračních křivek, limity detekce (LOD, ng·m⁻³) a limity kvantifikace (LOQ, ng·m⁻³) prvků v deionizované vodě a simulované tekutině plicních sklípků (SAF).

Tab. 7: Seznam hodnot použitých k výpočtu expoziční koncentrace.

Tab. 8: Průměrné koncentrace prvků (ng·m⁻³) vázaných na PM1 a PM2,5 v jednotlivých kampaních.

Tab. 9: Příspěvky jednotlivých zdrojů ke koncentraci PM1 a PM2,5.

Tab. 10: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_V^{DTT} a celkovou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci. Statisticky významné korelace ($r \geq \pm 0,37$) jsou zvýrazněny tučným písmem.

Tab. 11: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_m^{DTT} a celkovou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci. Statisticky významné korelace ($r \geq \pm 0,37$) jsou zvýrazněny tučným písmem.

Tab. 12: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_V^{DTT} a biodostupnou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci.

Tab. 13: Pearsonovy korelační koeficienty (r) mezi OP_m^{DTT} a biodostupnou koncentrací prvků v PM1 a PM2,5 frakci.

10 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] United Nations: *World Urbanization Prospects, The 2018 Revision* [online]. 2019 [cit. 2021-10-25]. Dostupné z: <https://population.un.org>
- [2] Oficiální stránky Statutárního města Brno. *Kvalita ovzduší, imisní monitoring*. Dostupné z: <https://www.brnenskeovzdusi.cz>
- [3] POPE III, C. A., R. T. BURNETT a M. J. THUN a kol. Lung Cancer, Cardiopulmonary Mortality, and Long-term Exposure to Fine Particulate Air Pollution. *The Journal of the American Medical Association*. 2002, vol. 287, no. 9, pp. 1132-1141. DOI: 10.1001/jama.287.9.1132. Dostupné z: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/194704>
- [4] DO VALE I., A. S. VASCONCELOS a G. O. DUARTE. Inhalation of particulate matter in three different routes for the same OD pair: A case study with pedestrians in the city of Lisbon. *Journal of Transport and Health*. 2015, vol. 2, pp. 474-482. DOI: 10.1016/j.th.2015.07.003.
- [5] BRANIŠ Martin a Iva HŮNOVÁ, ed. *Atmosféra a klima: aktuální otázky ochrany ovzduší*. V Praze: Karolinum, 2009. ISBN 978-80-246-1598-1.
- [6] LAGZI I., R. MÉSZÁROS, G. GELYBÓ a A. LEELŐSSY. *Atmospheric Chemistry* [online]. 2013. Budapešť: Eötvös Loránd University, 2013 [cit. 2019-04-14]. Dostupné z: <http://garfield.chem.elte.hu>
- [7] PERRINO Cinzia. Atmospheric particulate matter. In: *Proceedings of a C.I.S.B. Minisymposium* [online]. 2010, s. 35-43 [cit. 2019-04-24]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/228652246_Atmospheric_particulate_matter
- [8] KULMALA M., L. LAAKSO, K. E. LEHTINEN a kol. Initial steps of aerosol growth. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2004, vol. 4, pp. 2553-2560. DOI: 10.5194/acp-4-2553-2004. Dostupné také z: <https://acp.copernicus.org/articles/4/2553/2004/>
- [9] KIM K.-H., E. KABIR a S. KABIR. A review on the human health impact of airborne particulate matter. *Environment International*. 2015, vol. 74, pp. 136-143. DOI: 10.1016/j.envint.2014.10.005. ISSN 01604120. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412014002992>
- [10] TOMASI Claudio a Angelo LUPI. Primary and Secondary Sources of Atmospheric Aerosol. *Atmospheric Aerosols*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag, 2017, pp. 1-86. DOI: 10.1002/9783527336449.ch1. ISBN 9783527336449. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9783527336449.ch1>
- [11] Atmospheric particles. Penn State College of Earth and Mineral Sciences [online]. State College: The Pennsylvania State University [cit. 2019-04-24]. Dostupné z: https://www.ems.psu.edu/~brune/m532/meteo532_ch6_atmospheric_particles.htm
- [12] BLAŽEK Z., L. ČERNIKOVSKÝ, E. KRAJNY a kol. *Vliv meteorologických podmínek na kvalitu ovzduší v přeshraniční oblasti Slezska a Moravy*. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2013. ISBN 978-80-87577-15-8.
- [13] XIANG Y., T. ZHANG, J. LIU a kol. Atmosphere boundary layer height and its effect on air pollutants in Beijing during winter heavy pollution. *Atmospheric Research*. 2019, vol. 215, pp. 305-316. DOI: 10.1016/j.atmosres.2018.09.014. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169809518307130?via=ihub>
- [14] MÉSZÁROS Ernő. *Fundamentals of atmospheric aerosol chemistry*. Budapest: Akadémiai Kiadó, 1999. ISBN: 963 05 7624 4.

- [15] SAMCOVÁ Eva. *Kombinace pozemních a letových měření atmosférického aerosolu*. Ostrava, 2015. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Doc. Ing. Petr Jančík, Ph.D.
- [16] CHOW Judith C. *Measurement Methods to Determine Compliance with Ambient Air Quality Standards for Suspended Particles*. 2012, vol. 45, no. 5, pp. 320-382. DOI: 10.1080/10473289.1995.10467369. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10473289.1995.10467369>
- [17] PASTEFANOU Constantinos. Chapter 6 Aerosol sampling and measurement techniques. *Radioactive Aerosols*. 2008, vol. 12, pp. 113-159. DOI: 10.1016/S1569-4860(07)12006-4. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1569486007120064>
- [18] MANOLI E., D. VOUTSA a C. SAMARA. Chemical characterization and source identification/apportionment of fine and coarse air particles in Thessaloniki, Greece. *Atmospheric Environment*. 2002, vol. 36, no. 6, pp. 949-961. DOI: 10.1016/S1352-2310(01)00486-1. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231001004861>
- [19] JANSSEN N. A. H., J. J. DE HARTOG, G. HOEK a kol. *Personal Exposure to Fine Particulate Matter in Elderly Subjects: Relation between Personal, Indoor, and Outdoor Concentrations*. 2011, vol., 50, no. 7, pp. 1133-1143. DOI: 10.1080/10473289.2000.10464159. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10473289.2000.10464159>
- [20] ADAMS K., D. S. GREENBAUM, R. SHAIKH a kol. Particulate matter components, sources, and health: Systematic approaches to testing effects. *Journal of the Air and Waste Management Association*. 2015, vol. 65, no. 5, pp. 544-558. DOI: 10.1080/10962247.2014.10001884. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10962247.2014.1001884>
- [21] TRABOULSI H., N. GUERRINA, M. IU, D. MAYSINGER a kol. Inhaled pollutants: The molecular scene behind respiratory and systematic diseases associated with ultrafine particulate matter. *International Journal of Molecular Science*. 2017, vol. 18, no. 243. DOI: 10.3390/ijms18020243. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/2/243>
- [22] ZWOZDZIAK A., M. I. GINI, L. SAMEK a kol. Implications of the aerosol size distribution modal structure of trace and major elements on human exposure, inhaled dose and relevance to the PM_{2.5} and PM₁₀ metrics in European pollution hotspot urban area. *Journal of Aerosol Science*. 2017, vol. 103, pp. 38-52. DOI: 10.1016/j.jaerosci.2016.10.004. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021850216300970?via=ihub>
- [23] AALAPATI S., S. GANAPATHY, S. MANAPURAM a kol. Toxicity and bio-accumulation of inhaled cerium oxide nanoparticles in CD1 mice. *Nanotoxicology*. 2014, vol. 8, no. 7, pp. 786-789. DOI: 10.3109/17435390.2013.829877. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/17435390.2013.829877>
- [24] SHIRAIWA, M., K. UEDA, A. POZZER a kol. *Aerosol Health Effects from Molecular to Global Scales*. 2017, vol. 51, no. 23, pp. 13545-13567. DOI: 10.1021/acs.est.7b04417. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.7b04417>

- [25] GUAITA R., M. PICHIULE, T. MATÉ a kol. Short-term impact of particulate matter (PM 2.5) on respiratory mortality in Madrid. *International Journal of Environmental Health Research*. 2011, vol. 21, no. 4, pp. 260-274. DOI: 10.1080/09603123.2010.544033. ISSN 0960-3123. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09603123.2010.544033>
- [26] PEREZ L., A. TOBIÁS, X. QUEROL a kol. Saharan dust, particulate matter and cause-specific mortality: A case–crossover study in Barcelona (Spain). *Environment International*. 2012, vol. 48, pp. 150-155. DOI: 10.1016/j.envint.2012.07.001. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016041201200147X>
- [27] ČESKÁ REPUBLIKA. *Zákon o ochraně ovzduší*. In: Praha, 2012, 69/2012, Zákon 201/2012 Sb.
- [28] DOCKERY D. W a C. A. POPE III. Acute respiratory effects of particulate air pollution. *Annual Review of public health*. 1994, vol. 15, pp. 107-132. DOI: 10.1146/annurev.pu.15.050194.000543. Dostupné také z: https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pu.15.050194.000543?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
- [29] YANG K. X., K. SWAMI a L. HUSAIN. Determination of trace metals in atmospheric aerosol with a heavy matrix of cellulose by microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B*. 2002, vol. 57, pp. 73-84. DOI: 10.1016/S0584-8547(01)00354-8. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0584854701003548>
- [30] HUSAIN Liaquat. A technique for determining in-cloud formation of SO₄. *Geophysical research letters*. 1989, vol. 16, no. 1., pp. 57-60. DOI: 10.1029/GL016i001p00057. Dostupné také z: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/GL016i001p00057>
- [31] VOJTĚŠEK M., P. MIKUŠKA a Z. VEČEŘA. Výskyt, zdroje a stanovení kovů v ovzduší. *Chemické Listy*. 2009, vol. 103, pp. 136-144.
- [32] RAGOSTA M., R. CAGGIANO, M. MACCHIATO a kol. Trace elements in daily collected aerosol: Level characterization and source identification in a four-year study. *Atmospheric Research*. 2008, vol. 89, pp. 206-217. DOI: 10.1016/j.atmosres.2008.01.009. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169809508000288>
- [33] TOSCANO, G., A. GAMBARO, I. MORET a kol. Trace metals in aerosol at Terra Nova Bay, Antarctica. *Journal of Environmental Monitoring*. 2005, vol. 7, no. 12, pp. 1275-1280. DOI: 10.1039/b507337p. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b507337p>
- [34] DAVIS, H. T., C. M. AELION, S. MCDERMOTT a A. B. LAWSON. Identifying natural and anthropogenic sources of metals in urban and rural soils using GIS-based data, PCA, and spatial interpolation. *Environmental Pollution*. 2009, vol. 157, pp. 2378-2385. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.03.021. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749109001468>
- [35] BENETELLO F., S. SQUIZZATO, M. MASIOL a kol. A procedure to evaluate the factors determining the elemental composition of PM_{2.5}. A case study: the Veneto region (northeastern Italy). 2018, vol. 25, pp. 3823-3839. DOI: 10.1007/s11356-017-0759-7. Dostupné také z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-017-0759-7>

- [36] DONGARRÀ G., E. MANNO a D. VARRICA. Possible markers of traffic-related emissions. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2009, vol. 154, pp. 117-125. DOI: 10.1007/s10661-008-0382-7. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10661-008-0382-7>
- [37] HEO, J., B. WU, Z. ABDEEN a kol. Source apportionments of ambient fine particulate matter in Israeli, Jordanian, and Palestinian cities. *Environmental Pollution*. 2017, vol. 225, pp. 1-11. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.01.081. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749116315135>
- [38] HASHEMINASSAB S., N. DAHER, A. SAFFARI a kol. Spatial and temporal variability of sources of ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) in California. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2014, vol. 14, no. 2, pp. 12085-12097. DOI: 10.5194/acp-14-12085-2014. Dostupné také z: <https://www.atmos-chem-phys.net/14/12085/2014/>
- [39] HINKLEY T. K., P. J. LAMOTHE, S. A. WILSON a kol. Metal emissions from Kilauea, and a suggested revision of the estimated worldwide metal output by quiescent degassing of volcanoes. *Earth and Planetary Science Letters*. Elsevier Science B.V., 1999, vol. 170, no. 3, pp. 315-325. DOI: 10.1016/S0012-821X(99)00103-X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012821X9900103X>
- [40] GARRETT, Robert G. Natural Sources of Metals to the Environment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 2000, vol. 6, no. 6, pp. 945-963. DOI: 10.1080/10807030091124383. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10807030091124383>
- [41] PACYNA, J. M. a E. G. PACYNA. An assessment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic sources worldwide. *Environmental Reviews*. 2001, vol. 9, no. 4, pp. 269-298. DOI: 10.1139/er-9-4-269. Dostupné také z: http://www.nrc.ca/cgi-bin/cisti/journals/rp/rp2_abst_e?er_a01-012_9_ns_nf_er9-01
- [42] KELLY, Frank J. a Julia C. FUSSELL. Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter. *Atmospheric Environment*. 2012, vol. 60, pp. 504-526. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2012.06.039. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231012006024>
- [43] LE ROUX G., S.V. HANSSON a A. CLAUSTRES. Inorganic Chemistry in the Mountain Critical Zone. *Mountain Ice and Water - Investigations of the Hydrologic Cycle in Alpine Environments*. Elsevier. 2016, vol. 21, pp. 131-154. Developments in Earth Surface Processes. DOI: 10.1016/B978-0-444-63787-1.00003-2. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444637871000032>
- [44] TSAI Y. I, S.-C. KUO a Y.-H. LIN. Temporal characteristic of inhalable mercury and arsenic aerosols in the urban atmosphere in southern Taiwan. *Atmospheric Environment*. 2003, vol. 37, no. 24, pp. 3401-3411. DOI: 10.1016/S1352-2310(03)00358-3. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231003003583>
- [45] WEN Hanjie a Jean CARIGNAN. Reviews on atmospheric selenium: Emissions, speciation and fate. *Atmospheric Environment*. 2007, vol. 41, no. 34, pp. 7151-7165. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2007.07.035. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231007006711>

- [46] WANG X., T. SATO a B. XING. Size distribution and anthropogenic sources apportionment of airborne trace metals in Kanazawa, Japan. *Chemosphere*. 2006, vol. 65, no. 11, pp. 2440-2448. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.04.050. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653506005145>
- [47] ZHAO R., B. HAN, B. LU a kol. Element composition and source apportionment of atmospheric aerosols over the China Sea. *Atmospheric Pollution Research*. 2015, vol. 6, no. 2, pp. 191-201. DOI: 10.5094/APR.2015.023. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1309104215302270>
- [48] WANG F., Y. CHEN, X. MENG a kol. The contribution of anthropogenic sources to the aerosols over East China Sea. *Atmospheric Environment*. 2016, vol. 127, pp. 22-33. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2015.12.002. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231015305707>
- [49] PEY J., X. QUEROL, A. ALASTUEY a kol. Source apportionment of urban fine and ultra-fine particle number concentration in a Western Mediterranean city. *Atmospheric Environment*. 2009, vol. 43, no. 29, pp. 4407-4415. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2009.05.024. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231009004531>
- [50] THORPE, Alistair a Roy M. HARRISON. Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. *Science of The Total Environment*. 2008, vol. 400, pp. 270-282. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.007. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896970800658X>
- [51] LIN Y.-C., C.-J. TSAI, Y.-C. WU a kol. Characteristics of trace metals in traffic-derived particles in Hsuehshan Tunnel, Taiwan: size distribution, potential source, and fingerprinting metal ratio. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2015, vol. 15, no. 8, pp. 4117-4130. DOI: 10.5194/acp-15-4117-2015. Dostupné také z: <https://www.atmos-chem-phys.net/15/4117/2015/>
- [52] HARTE J., CH. HOLDER, R. SCHNEIDER a CH. SHIRLEY. *Toxics A to Z: A Guide to Everyday Pollution Hazards*. Berkeley: University of California Press, 1991. ISBN: 9780520072244
- [53] DUFFUS J. H. "Heavy metals" – a meaningless term? *Pure and Applied Chemistry*, 2002, vol. 74, no. 5, pp. 793-807. ISSN: 00334545
- [54] SE-KWON, Kim, ed. *Springer Handbook of Marine Biotechnology*. Heidelberg: Springer, 2015. ISBN: 978-3-642-53970-1
- [55] NOVÁK, Lukáš. *Toxicita, biodostupnost a relativní nebezpečnost kovů*. Olomouc, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Palackého v Olomouci. Vedoucí práce Mgr. Alena Klanicová, Ph.D.
- [56] STAVRIDES, John C. Lung carcinogenesis: Pivotal role of metals in tobacco smoke. *Free Radical Biology and Medicine*. 2006, vol. 41, no. 7, pp. 1017-1030. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.06.024. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584906004266>
- [57] BELL M. L., A. ZANOBETTI a F. DOMINICI. Evidence on Vulnerability and Susceptibility to Health Risks Associated with Short-Term Exposure to Particulate Matter: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Epidemiology*. 2013, vol. 178, no. 6, pp. 865-876. DOI: 10.1093/aje/kwt090. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/aje/article-lookup/doi/10.1093/aje/kwt090>

- [58] MARTINELLI N., O. OLIVIERI a D. GIRELLI. Air particulate matter and cardiovascular disease: A narrative review. *European Journal of Internal Medicine*. 2013, vol. 24, no. 4, pp. 295-302. DOI: 10.1016/j.ejim.2013.04.001. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0953620513001040>
- [59] MILLER M. R., C. A. SHAW a J. P. LANGRISH. From particles to patients: oxidative stress and the cardiovascular effects of air pollution. *Future Cardiology*. 2012, vol. 8, no. 4, pp. 577-602. DOI: 10.2217/fca.12.43. Dostupné také z: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fca.12.43>
- [60] ADACHI S., K. TAKEMOTO, S. OHSHIMA a kol. Metal concentrations in lung tissue of subjects suffering from lung cancer. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 1991, vol. 63, no. 3, pp. 193-197. DOI: 10.1007/BF00381568. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00381568>
- [61] MEHTA M., L.-C. CHEN, T. GORDON a kol. Particulate matter inhibits DNA repair and enhances mutagenesis. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2008, vol. 657, no. 2, pp. 116-121. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2008.08.015. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383571808002349>
- [62] MASSEY D. D., A. KULSHRESTHA a A. TANEJA. Particulate matter concentrations and their related metal toxicity in rural residential environment of semi-arid region of India. *Atmospheric Environment*. 2013, vol. 67, pp. 278-286. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2012.11.002. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135223101201047>
- [63] VALAVANIDIS A., T. VLACHOGIANNI, K. FIOTAKIS a S. LORIDAS. Pulmonary Oxidative Stress, Inflammation and Cancer: Respirable Particulate Matter, Fibrous Dusts and Ozone as Major Causes of Lung Carcinogenesis through Reactive Oxygen Species Mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2013, vol. 10, no. 9, pp. 3886-3907. DOI: 10.3390/ijerph10093886. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1660-4601/10/9/3886>
- [64] SORSA, M. Genotoxic Chemicals. *Encyclopaedia of Occupational Health & Safety* [online]. Geneva: International Labor Organization, 2011 [cit. 2019-04-15]. Dostupné z: <http://www.iloencyclopaedia.org/part-iv-66769/biological-monitoring-65407/27/genotoxic-chemicals>
- [65] KOVÁČIKOVÁ Zuzana a Darina CHORVATOVIČOVÁ. Inhalation exposure of rats to metal aerosol. I. Effects on pulmonary surfactant and ascorbic acid. *Journal of Applied Toxicology*. 1992, vol. 12, no. 1, pp. 63-65. DOI: 10.1002/jat.2550120113. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jat.2550120113>
- [66] VALVERDE M., FORTOUL T. I., DIÁZ-BARRIGA F. a kol. Induction of genotoxicity by cadmium chloride inhalation in several organs of CD-1 mice. *Mutagenesis*. 2000, vol. 15, no. 2, pp. 109-114. DOI: 10.1093/mutage/15.2.109. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/mutage/article-lookup/doi/10.1093/mutage/15.2.109>
- [67] VALVERDE M., FORTOUL T. I., DIÁZ-BARRIGA F. a kol. Genotoxicity induced in CD-1 mice by inhaled lead: differential organ response. *Mutagenesis*. 2002, vol. 17, no. 1, pp. 55-61. DOI: 10.1093/mutage/17.1.55. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/mutage/article-lookup/doi/10.1093/mutage/17.1.55>

- [68] EHRLICH V. A., A. K. NERSESYAN, C. HOELZL a kol. Inhalative Exposure to Vanadium Pentoxide Causes DNA Damage in Workers: Results of a Multiple End Point Study. *Environmental Health Perspectives*. 2008, vol. 116, no. 12, pp. 1689-1693. DOI: 10.1289/ehp.11438. Dostupné také z: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.11438>
- [69] KAFKA Zdeněk a Jana PUNČOCHÁŘOVÁ. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy* [online]. 2002, vol. 96, pp. 611-617 [cit. 2019-04-15]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2002_07_05.pdf
- [70] TCHOUNWOU P. B., G. Y. CLEMENT, A. K. PATLOLLA a D. J. SUTTON. Heavy Metal Toxicity and the Environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. 2012, vol. 101, pp. 133-164. DOI: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- [71] Souhrnný tabelární přehled Českého hydrometeorologického ústavu. Dostupné z: https://www.chmi.cz/files/portal/docs/uoco/isko/tab_roc/2018_enh/index_CZ.html
- [72] CHARRIER J. G. a C. ANASTASIO. On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2012, vol. 12, no. 19, pp. 9321-9333. DOI: 10.5194/acp-12-9321-2012. Dostupné také z: <https://www.atmos-chem-phys.net/12/9321/2012/>
- [73] Lead. *Mineral Commodity Summaries 2006* [online]. Washington: United States Government Printing Office, 2006 [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/lead/lead_mcs05.pdf
- [74] FLORA G., D. GUPTA a A. TIWARI. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*. 2012, vol. 5, no. 2, pp. 47-58. DOI: 10.2478/v10102-012-0009-2. Dostupné také z: <http://content.sciendo.com/view/journals/intox/5/2/article-p47.xml>
- [75] SWARAN J. S. F. a S. AGRAWAL. *Reproductive and Development Toxicology: Chapter 31 – Arsenic, Cadmium and Lead*. 2 vyd. London: Academic Press, 2017. ISBN: 978-012-8042-397
- [76] FORTOUL T. I., R. C. SALGADO, S. G. MONCADA a kol. Ultrastructural Findings in the Murine Nonciliated Bronchiolar Cells (NCBC) after Subacute Inhalation of Lead Acetate. *Acta Veterinaria Brno*. 1999, vol. 68, no. 1, pp. 51-55. DOI: 10.2754/avb199968010051. Dostupné také z: <https://actavet.vfu.cz/68/1/0051/>
- [77] COWAN J. A. *Inorganic Biochemistry: An Introduction*. 2. vyd. Kanada: Wiley-VCH. ISBN: 0-471-18895-6
- [78] WAISBERG M., P. JOSEPH, B. HALE a D. BEYERSMANN. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*. 2003, vol. 192, pp. 95-117. DOI: 10.1016/S0300-483X(03)00305-6. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X03003056>
- [79] WATANABE M., K. HENMI, K. OGAWA a T. SUZUKI. Cadmium-dependent generation of reactive oxygen species and mitochondrial DNA breaks in photosynthetic and non-photosynthetic strains of *Euglena gracilis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*. 2003, vol. 134, no. 2, pp. 227-234. DOI: 10.1016/S1532-0456(02)00253-3. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1532045602002533>

- [80] [92] PRICE, Daniel J. a Jayant G. JOSHI. Ferritin. Binding of beryllium and other divalent metal ions. *Journal of Biological Chemistry*. 1983, vol. 258, no. 18, pp. 10873-10880.
- [81] ZAFRA-STONE S., M. BAGCHI, H. G. PRAUSS a D. BAGCHI. Benefits of chromium (III) complex in animal and human health. *The Nutritional Biochemistry of Chromium (III)*. 2019, pp. 251-278. DOI: 10.1016/B978-0-444-64121-2.00008-8. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444641212000088>
- [82] Toxicological profile for chromium. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* [online]. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2012 [cit. 2019-03-15]. Dostupné z: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>
- [83] WAKEEL A., M. XU a Y. GAN. Chromium-induced reactive oxygen species accumulation by alternating the enzymatic antioxidant system and associated cytotoxic, genotoxic, ultrastructural, and photosynthetic changes in plants. *International Journal of Molecular Science*. 2020, vol. 21, no. 728. DOI: 10.3390/ijms21030728. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/3/728>
- [84] SINGH J., D. L. CARLISLE, D. E. PRITCHARD a S. R. PATIERNO. Chromium-induced genotoxicity and apoptosis: relationship to chromium carcinogenesis (review). *Oncology Reports*. 1998, vol. 5, no. 6, pp. 1307-1318. DOI: 10.3892/or.5.6.1307. Dostupné také z: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.5.6.1307>
- [85] KEEGAN G. M., I. D. LEARMONTH a C. CASE. A Systematic Comparison of the Actual, Potential, and Theoretical Health Effects of Cobalt and Chromium Exposures from Industry and Surgical Implants. *Critical Reviews in Toxicology*. 2008, vol. 38, no. 8, pp. 645-674. DOI: 10.1080/10408440701845534. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408440701845534>
- [86] SHI X.L., N.S. DALAL a K.S. KASPRZAK. Generation of Free Radicals from Hydrogen Peroxide and Lipid Hydroperoxides in the Presence of Cr(III). *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1993, vol. 302, no. 1, pp. 294-299. DOI: 10.1006/abbi.1993.1213. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003986183712130>
- [87] HORIE M., K. NISHIO, S. ENDOH a kol. Chromium(III) oxide nanoparticles induced remarkable oxidative stress and apoptosis on culture cells. *Environmental toxicology*. 2011, vol. 28, no. 2, pp. 61-75. DOI: 10.1002/tox.20695. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tox.20695>
- [88] BISHOP G. M., R. DRINGEN a S. R. ROBINSON. Zinc stimulates the production of toxic reactive oxygen species (ROS) and inhibits glutathione reductase in astrocytes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007, vol. 42, no. 8, pp. 1222-1230. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.022. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584907000494>
- [89] STERN B. R. Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: overview, update and regulatory consideration. *Health risk assessment of essential metals*. 2010, vol. 73, no. 2, pp. 114-127. DOI: 10.1080/15287390903337100
- [90] SCHLEICHER N. J., S. DONG, H. PACKMAN a kol. A Global Assessment of Copper, Zinc, and Lead Isotopes in Mineral Dust Sources and Aerosols. *Frontiers in*

- Earth Science*. 2020, vol. 8. DOI: 10.3389/feart.2020.00167. Dostupné také z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/feart.2020.00167>
- [91] SPEISKY H., M. GÓMEZ, F. BURGOS-BRAVO a kol. Generation of superoxide radicals by copper–glutathione complexes: Redox-consequences associated with their interaction with reduced glutathione. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2009, vol. 17, no. 5, pp. 1803-1810. DOI: 10.1016/j.bmc.2009.01.069. ISSN 09680896. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089609001163>
- [92] BARBUSIŃSKI Krzysztof. Fenton reaction - controversy concerning the chemistry. *Ecological chemistry and engineering S*. 2009, vol. 16, no. 3, pp. 347-358. ISSN 1898-6196.
- [93] MORIWAKI H., M. R. OSBORNE a D. H. PHILLIPS. Effects of mixing metal ions on oxidative DNA damage mediated by a Fenton-type reduction. *Toxicology in Vitro*. 2008, vol. 22, no. 1, pp. 36-44. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.07.011. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887233307002044>
- [94] KELLER A. A., A. S. ADELEY, J. R. CONWAY a kol. Comparative environmental fate and toxicity of copper nanomaterials. *NanoImpact*. 2017, vol. 7, pp. 28-40. DOI: 10.1016/j.impact.2017.05.003
- [95] ABBASPOUR N., R. HURRELL a R. KELISHADI. Review on iron and its importance for human health. *Journal of research in medical sciences*. 2014, vol. 19, no. 2, pp. 164-174. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3999603/>
- [96] CHENG Zhiyong a Yuanzong LI. What Is Responsible for the Initiating Chemistry of Iron-Mediated Lipid Peroxidation: An Update. *Chemical Reviews*. 2007, vol. 107, no. 3, pp. 748-766. DOI: 10.1021/cr040077w. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr040077w>
- [97] HOFFMANN P., A. N. DEDIK, J. ENSLING a kol. Speciation of iron in atmospheric aerosol samples. *Journal of aerosol science*. 1996, vol. 27, no. 2, pp. 325-337. DOI: 10.1016/0021-8502(95)00563-3. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021850295005633>
- [98] JONES-LEE Anne a G. Fred LEE. Role of iron chemistry in controlling the release of pollutants from resuspended sediments. *Remediation Journal*. 2005, vol. 16, no. 1, pp. 33-41. DOI: 10.1002/rem.20068. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/rem.20068>
- [99] PARK H. S., S. R. KIM a Y. C. LEE. Impact of oxidative stress on lung diseases. *Respirology*. 2009, vol. 14, no. 1, pp. 27-38. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2008.01447.x. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1440-1843.2008.01447.x>
- [100] GANZ Tomas. Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 2003, vol. 102, no. 3, pp. 783-788. DOI: 10.1182/blood-2003-03-0672. Dostupné také z: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2003-03-0672>
- [101] DIZDAROGLU M., P. JARUGA, M. BIRINCI OGLU a H. RODRIGUEZ. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002, vol. 32, no. 11, pp. 1102-1115. DOI: 10.1016/S0891-5849(02)00826-2. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584902008262>

- [102] ZAMBELLI B. a S. CIURLI. Nickel and human health. Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. *Metal ions in life science*. 2013, vol. 13 DOI: 10.1007/978-94-007-7500-8_10.
- [103] FRAUSTO DA SILVA J. J. R a R. J. P. WILLIAMS. *The Biological Chemistry of the Elements: The Inorganic Chemistry of Life*. 2. vyd. Oxford: Oxford University Press, 2001. ISBN: 0198508476
- [104] LEE Y. W., C. B. KLEIN, B. KARGACIN a kol. Carcinogenic nickel silences gene expression by chromatin condensation and DNA methylation: a new model for epigenetic carcinogens. *Molecular and Cellular Biology*. 1995, vol. 15, no. 5, pp. 2547-2557. DOI: 10.1128/MCB.15.5.2547. Dostupné také z: <http://mcb.asm.org/lookup/doi/10.1128/MCB.15.5.2547>
- [105] LATVALA S., J. HEDBERG, S. DI BUCCHIANICO a kol. Nickel Release, ROS Generation and Toxicity of Ni and NiO Micro- and Nanoparticles. *PLOS ONE*. 2016, vol. 11, no. 7, pp. 1-20. DOI: 10.1371/journal.pone.0159684. Dostupné také z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0159684>
- [106] KIM J., C. GHERASIM a R. BANERJEE. Decyanation of vitamin B12 by a trafficking chaperone: 1073 goda. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008, vol. 105, no. 38, pp. 14551-14554. DOI: 10.1073/pnas.0805989105. Dostupné také z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0805989105>
- [107] CZARNEK K., S. TERPILOWSKA, A. K. SIWICKI. Selected aspects of the action of cobalt ions in the human body. *Central European Journal of Immunology*. 2015, vol. 40, no. 2, pp. 236-242. DOI: 10.5114/ceji.2015.52837. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4637398/>
- [108] LISON D. Update on the genotoxicity and carcinogenicity of cobalt compounds. *Occupational and Environmental Medicine*. 2001, vol. 58, no. 10, pp. 619-625. DOI: 10.1136/oem.58.10.619. Dostupné také z: <http://oem.bmj.com/cgi/doi/10.1136/oem.58.10.619>
- [109] LEYSSENS L., B. VINCK, C. VAN DER STRAETEN a kol. Cobalt toxicity in humans – A review of the potential sources and systemic health effects. *Toxicology*. 2017, vol. 387, pp. 43-56. DOI: 10.1016/j.tox.2017.05.015. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X17301555>
- [110] GALANIS A., A. KARAPETSAS a R. SANDALTZOPOULOS. Metal-induced carcinogenesis, oxidative stress and hypoxia signalling. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2009, vol. 674, pp. 31-35. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2008.10.008. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383571808003057>
- [111] SHAFER M. M., B. M. TONER., J. T. OVERDIER a kol. Chemical Speciation of Vanadium in Particulate Matter Emitted from Diesel Vehicles and Urban Atmospheric Aerosols. *Environmental Science and Technology*. 2012, vol. 46, no. 1, pp. 189-195. DOI: 10.1021/es200463c. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es200463c>
- [112] VALKO M., C.J. RHODES, J. MONCOL a kol. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 2006, vol. 160, no. 1, pp. 1-40. DOI: 10.1016/j.cbi.2005.12.009. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279705004333>

- [113] VENKATARAMAN, B. V. a S. SUDHA. Vanadium Toxicity. *Vanadium Toxicity. Asian Journal of Experimental Sciences*. 2005, vol. 19, no. 2, pp. 127-134 [cit. 2019-04-24]. Dostupné z: <http://ajesjournal.com/PDFs/05-2/15-Vanadium%20Toxicity.pdf>
- [114] CARVER Peggy L. Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic. *Metal ions in life science*. 2019, vol. 19 DOI: 10.1515/9783110527872.
- [115] MAJESTIC B. J., J. J. SCHAUER a M. M. SHAFER. Development of a Manganese Speciation Method for Atmospheric Aerosols in Biologically and Environmentally Relevant Fluids. *Aerosol Science and Technology*. 2007, vol. 41, no. 10, pp. 925-933. DOI: 10.1080/02786820701564657. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02786820701564657>
- [116] CHTOUROU Y., K. TRABELSI, H. FETOUI a kol. Manganese Induces Oxidative Stress, Redox State Unbalance and Disrupts Membrane Bound ATPases on Murine Neuroblastoma Cells In Vitro: Protective Role of Silymarin. *Neurochemical Research*. 2011, vol. 36, no. 8, pp. 1546-1557. DOI: 10.1007/s11064-011-0483-5. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11064-011-0483-5>
- [117] FARINA M., D. S. AVILA, J. B. T. DA ROCHA a M. ASCHNER. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: A focus on iron, manganese and mercury. *Neurochemistry International*. 2013, vol. 62, no. 5, pp. 575-594. DOI: 10.1016/j.neuint.2012.12.006. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197018612003968>
- [118] HAMEL S. C., B. BUCKLEY a P. J. LIOY. Bioaccessibility of Metals in Soils for Different Liquid to Solid Ratios in Synthetic Gastric Fluid. *Environmental Science and Technology*. 1998, vol. 32, no. 3, pp. 358-362. DOI: 10.1021/es9701422. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es9701422>
- [119] KASTURY F., E. SMITH, A. L. JUHASZ. A critical review of approaches and limitations of inhalation bioavailability and bioaccessibility of metal(loid)s from ambient particulate matter or dust. *Science of the Total Environment*. 2017, vol. 574, pp. 1054-1074. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.056. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716319763>
- [120] MORMAN S. A. a PLUMLEE G. S. The role of airborne mineral dusts in human disease. *Aeolian Research*. 2013, vol. 9, pp. 203-212. DOI: 10.1016/j.aeolia.2012.12.001. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1875963712000742>
- [121] SCHRAUFNAGEL Dean E. The health effects of ultrafine particles. *Experimental and Molecular Medicine*. 2020, vol. 52, pp. 311-317. DOI: 10.1038/s12276-020-0403-3. Dostupné také z: <https://www.nature.com/articles/s12276-020-0403-3>
- [122] GONDA Igor. Targeting by deposition. *Pharmaceutical inhalation aerosol technology, second edition*. 2003. DOI: 10.1201/9780203912898.ch3.
- [123] BĚLKA Miloslav. *In vitro study of the effect of particle characteristics and flow rate on regional deposition in human airways*. Brno, 2018. Dizertační práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce doc. Ing. Jan Jedelský, Ph.D.
- [124] UTEMBE W., K. POTGIETER, A. B. STEFANIAK a M. GULUMIAN. Dissolution and biodurability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials. *Particle and Fiber Toxicology*. 2015, vol. 12, no. 11. DOI: 10.1186/s12989-015-0088-2. Dostupné také z:

- <https://particleandfibretoxicology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12989-015-0088-2>
- [125] XIA T., M. KOVOCHICH, M. LIONG a kol. Comparison of the Mechanism of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties. *ACS Nano*. 2008, vol. 2, no. 10, pp. 2121-2134. DOI: 10.1021/nn800511k. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn800511k>
- [126] DUMKOVÁ J., T. SMUTNÁ, L. VRLÍKOVÁ a kol. Variability in the Clearance of Lead Oxide Nanoparticles Is Associated with Alteration of Specific Membrane Transporters. *ACS Nano*. 2020, vol. 14, no. 3, pp. 3096-3120. DOI: 10.1021/acsnano.9b08143. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.9b08143?ref=pdf>
- [127] WALLENBORN J. G., P. EVANSKY, J. H. SHANNAHN a kol. Subchronic inhalation of zinc sulfate induces cardiac changes in healthy rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2008, vol. 232, no. 1, pp. 69-77. DOI: 10.1016/j.taap.2008.05.025. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X08002457?via%3Dihub>
- [128] BAKAND S., C. WINDER, C. KHALIL a A. HAYES. Toxicity Assessment of Industrial Chemicals and Airborne Contaminants: Transition from In Vivo to In Vitro Test Methods: A Review. *Inhalation Toxicology*. 2005, vol. 17, no. 13, pp. 775-787. DOI: 10.1080/08958370500225240. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08958370500225240?journalCode=iiht20>
- [129] DRISCOLL K. E., D. L. COSTA, G. HATCH a kol. Intratracheal instillation as an exposure technique for evaluation of respiratory tract toxicity: uses and limitations. *Toxicological sciences*. 2000, vol. 55, no. 1, pp. 24-35. DOI: 10.1093/toxsci/55.1.24. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/toxsci/article/55/1/24/1657682>
- [130] GRAY D. L., L. A. WALLACE, M. C. BRINKMAN a kol. Respiratory and cardiovascular effects of metals in ambient particulate matter: a critical review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2014, vol. 2015, pp. 136-203. DOI: 10.1007/978-3-319-10638-0_3. Dostupné také z: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-319-10638-0_3
- [131] MORFELD P., J. BRUNCH, L. LEVY a kol. Translational toxicology in setting occupational exposure limits for dusts and hazard classification – a critical evaluation of a recent approach to translate dust overload findings from rats to humans. *Particle and Fibre Toxicology*. 2015, vol. 12, no. 3. DOI: 10.1186/s12989-015-0079-3. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4443602/>
- [132] YUAN Y., Y. WU, X. GE a kol. In vitro toxicity evaluation of heavy metals in urban air particulate matter on human lung epithelial cells. *Science of the Total Environment*. 2019, vol. 678, pp. 301-308. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.04.431. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719319825?via%3Dihub>
- [133] BRANDENBERGER C., B. ROTHEN-RATISHAUSER, C. MÜHLFELD a kol. Effects and uptake of gold nanoparticles deposited at the air-liquid interface of a human epithelial airway model. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010, vol. 242, no. 1, pp. 56-65. DOI: 10.1016/j.taap.2009.09.014. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X09004062?via%3Dihub>

- [134] NADADUR S. S., N. HAYKAL-COATES, A. MUDIPALLI a D. L. COSTA. Endothelial effects of emission source particles: Acute toxic response gene expression profiles. *Toxicology in Vitro*. 2009, vol. 23, no. 1, pp. 67-77. DOI: 10.1016/j.tiv.2008.10.004. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233308002518?via%3Dihub>
- [135] HYSENI X., J. M. SOUKUP a Y.-C. T. HUANG. Pollutant Particles Induce Arginase II in Human Bronchial Epithelial Cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2012, vol. 75, no. 11, pp. 624-636. DOI: 10.1080/15287394.2012.688479. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15287394.2012.688479?journalCode=uteh20>
- [136] WANG D., P. PAKBIN, M. M. SHAFER a kol. Macrophage reactive oxygen species activity of water-soluble and water-insoluble fractions of ambient coarse, PM_{2.5} and ultrafine particulate matter (PM) in Los Angeles. *Atmospheric Environment*. 2013, vol. 77, pp. 301-310. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2013.05.031. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231013003749?via%3Dihub>
- [137] WU J., L. WANG, J. HE, C. ZHU. In vitro cytotoxicity of Cu²⁺, Zn²⁺, Ag⁺ and their mixtures on primary human endometrial epithelial cells. *Contraception*. 2012, vol. 85, no. 5, pp. 509-518. DOI: 10.1016/j.contraception.2011.09.016. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010782411005701?via%3Dihub>
- [138] XU X., Y. LI, Y. WANG, Y. WANG. Assessment of toxic interactions of heavy metals in multi-component mixtures using sea urchin embryo-larval bioassay. *Toxicology in Vitro*. 2011, vol. 25, no. 1, pp. 294-300. DOI: 10.1016/j.tiv.2010.09.007. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233310002298?via%3Dihub>
- [139] COUFALÍK P. P. MIKUŠKA, T. MATOUŠEK a Z. VEČEŘA. Determination of the bioaccessible fraction of metals in urban aerosol using simulated lung fluids. *Atmospheric Environment*. 2016, vol. 140, pp. 469-475. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2016.06.031. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231016304642?via%3Dihub>
- [140] PELFRENE A., M. R. CAVE, J. WRAGG a F. DOUAY. In Vitro Investigations of Human Bioaccessibility from Reference Materials Using Simulated Lung Fluids. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2017, vol. 14, no. 2. DOI: 10.3390/ijerph14020112. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5334666/>
- [141] MUKHTAR A. a A. LIMBECK. Comparison of the extraction efficiencies of different leaching agents for reliable assessment of bio-accessible trace metal fractions in airborne particulate matter. *E3S Web of Conferences*. 2013, vol. 1. DOI: 10.1051/e3sconf/20130105001. Dostupné také z: https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/abs/2013/01/e3sconf_ichm13_05001/e3sconf_ichm13_05001.html
- [142] JULIEN C., P. ESPERANZA, M. BRUNO a L. Y. ALLEMAN. Development of an in vitro method to estimate lung bioaccessibility of metals from atmospheric particles. *Journal of Environmental Monitoring*. 2011, vol. 13, no. 3, pp. 621-630. DOI: 10.1039/C0EM00439A. Dostupné také z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/EM/c0em00439a#!divAbstract>

- [143] SCHAIDER L. A., B. D. SENN, D. J. BARBANDER, K. D. McCARTHY a J. P. SHINE. Characterization of Zinc, Lead, and Cadmium in Mine Waste: Implications for Transport, Exposure, and Bioavailability. *Environmental Science and Technology*. 2007, vol. 41, no. 11, pp. 4164-4171. DOI: 10.1021/es0626943. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0626943>
- [144] WRAGG Joanna a Mark R. CAVE. In-vitro Methods for the Measurement of the Oral Bioaccessibility of Selected Metals and Metalloids in Soils: A Critical Review. R&D Technical Report P5-062/TR/01. *Research Contractor British Geological Survey*. 2003, ISBN: 1-857-059-867. Dostupné také z: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/290321/sp5-062-tr-1-e-e.pdf
- [145] REN H., Y. YU a T. AN. Bioaccessibilities of metal(loid)s and organic contaminants in particulates measured in simulated human lung fluids: A critical review. *Environmental Pollution*. 2020, vol. 265, part B. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115070. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749120311131?via%3Dihub>
- [146] WAGGEBERG H., T. F. BENDEN, S. LIERHAGEN a kol. Characterization and bioaccessibility assessment of elements in urban aerosols by extraction with simulated lung fluids. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 2019, vol. 1, pp. 49-60. DOI: 10.1016/j.eneco.2019.10.001. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590182619300086?via%3Dihub>
- [147] GAMBLE J. L. Chemical anatomy, physiology and pathology of extracellular fluid, 8th edition, pp. 4-11. *Harvard University Press*. 1967
- [148] BOISA N., N. ELOM, J. R. DEAN a kol. Development and application of an inhalation bioaccessibility method (IBM) for lead in the PM₁₀ size fraction of soil. *Environment International*. 2014, vol. 70, pp. 132-142. DOI: 10.1016/j.envint.2014.05.021. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412014001718?via%3Dihub>
- [149] KASTURY F., E. SMITH, R. R. KARNA. An inhalation-ingestion bioaccessibility assay (IIBA) for the assessment of exposure to metal(loid)s in PM₁₀. *Science of the Total Environment*. 2018, vol. 631-632, no. 1, pp. 92-104. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.337. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971830737X?via%3Dihub>
- [150] KANAPILLY G. M., O. G. RAABE, C. H. T. GOH a R. A. CHIMENTI. Measurement of in Vitro Dissolution of Aerosol Particles for Comparison to in Vivo Dissolution in the Lower Respiratory Tract after Inhalation. *Health Physics*. 1973, vol. 24, no. 5, pp. 497-507. DOI: 10.1097/00004032-197305000-00004
- [151] ANSOBORLO E., R. A. GUILMETTE, M. D. HOOVER a kol. Application of In Vitro Dissolution Tests to Different Uranium Compounds and Comparison with In Vivo Data. *Radiation Protection Dosimetry*. 1998, vol. 79, no. 1-4, pp. 33-37. DOI: 10.1093/oxfordjournals.rpd.a032421
- [152] DAVIES Neal M. a Majid R. FEDDAH. A novel method for assessing dissolution of aerosol inhaler products. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003, vol. 255, no. 1-2, pp. 175-187. DOI: 10.1016/S0378-5173(03)00091-7. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517303000917>

- [153] MARTIN R., K. DOWLING, S. NANKERVIS a kol. In vitro assessment of arsenic mobility in historical mine waste dust using simulated lung fluid. *Environmental Geochemistry and Health*. 2018, vol. 40, pp. 1037-1049. DOI: 10.1007/s10653-017-9974-x. Dostupné také z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10653-017-9974-x>
- [154] LI S.-W., H.-B. LI, J. LUO a kol. Influence of pollution control on lead inhalation bioaccessibility in PM_{2.5}: A case study of 2014 Youth Olympic Games in Nanjing. *Environmental International*. 2016, vol. 94, pp. 69-75. DOI: 10.1016/j.envint.2016.05.010. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412016301830?via%3Dihub>
- [155] BERLINGER B., D. G. ELLINGSEN, M. NÁRAY a kol. A study of the bio-accessibility of welding fumes. *Journal of Environmental Monitoring*. 2008, vol. 10, no. 12, pp. 1448-1453. DOI: 10.1039/B806631K. Dostupné také z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2008/EM/b806631k>
- [156] GULDBERG M., V. R. CHRISTENSEN, M. PERANDER a kol. Measurement of In-Vitro Fibre Dissolution Rate at Acidic pH. *The Annals of Occupational Hygiene*. 1998, vol. 42, no. 4, pp. 233-243. DOI: 10.1093/annhyg/42.4.233. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/annweh/article/42/4/233/149126>
- [157] MIDANDER K., I. O. WALLINDER a CH. LEYGRAF. In vitro studies of copper release from powder particles in synthetic biological media. *Environmental Pollution*. 2007, vol. 145, no. 1, pp. 51-59. DOI: 10.1016/j.envpol.2006.03.041. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749106002521?via%3Dihub>
- [158] KASTURY F., E. SMITH, R. R. KARNA a kol. Methodological factors influencing inhalation bioaccessibility of metal(loid)s in PM_{2.5} using simulated lung fluid. *Environmental Pollution*. 2018, vol. 241, pp. 930-937. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.05.094. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749118305438?via%3Dihub>
- [159] LIU J., A. ZHANG, Y. CHEN a kol. Bioaccessibility, source impact and probabilistic health risk of the toxic metals in PM_{2.5} based on lung fluids test and Monte Carlo simulations. *Journal of Cleaner Production*. 2021, vol. 283. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.124667. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652620347119?via%3Dihub>
- [160] SEVCIKOVA M., H. MODRA, A. SLANINOVA a Z. SVOBODOVA. Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. *Veterinární Medicína*. 2011, vol. 56, no. 11, pp. 537-546. ISSN 0375-8427.
- [161] UNG L., U. PATTAMATTA, N. CARNT a kol. Oxidative stress and reactive oxygen species: a review of their role in ocular disease. *Clinical Science*. 2017, vol. 131, no. 24, 2865-2883. DOI: 10.1042/CS20171246. Dostupné také z: <http://www.clinsci.org/cgi/doi/10.1042/CS20171246>
- [162] KESHARI A. K., A. K. VERMA, T. KUMAR a R. SRIVASTAVA. Oxidative Stress: A Review. *The International Journal Of Science & Technoledge*. 2015, vol. 3, no. 7, pp. 155-162. ISSN 2321 – 919X.
- [163] GAO D., T. FANG, V. VERMA a kol. A method for measuring total aerosol oxidative potential (OP) with the dithiothreitol (DTT) assay and comparisons between an urban and roadside site of water-soluble and total OP. *Atmospheric Measurement*

- Techniques*. 2017, vol. 10, no. 8, pp. 2821-2835. DOI: 10.5194/amt-10-2821-2017. Dostupné také z: <https://amt.copernicus.org/articles/10/2821/2017/>
- [164] ABRAMS J. Y., R.J. WEBER, M. KLEIN a kol. Associations between Ambient Fine Particulate Oxidative Potential and Cardiorespiratory Emergency Department Visits. *Environmental Health Perspectives*. 2017, vol. 125, no. 10, pp. 1-9. DOI: 10.1289/EHP1545. Dostupné také z: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/EHP1545>
- [165] CALAS A., G. UZU, J. M. F. MARTINS, D. VOISIN a kol. The importance of simulated lung fluid (SLF) extractions for a more relevant evaluation of the oxidative potential of particulate matter. *Scientific Reports*. 2017, vol. 7, no. 1, pp. 1-12. DOI: 10.1038/s41598-017-11979-3. Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-11979-3>
- [166] CALAS A., G. UZU, F. J. KELLY a kol. Comparison between five acellular oxidative potential measurement assays performed with detailed chemistry on PM10 samples from the city of Chamonix (France). *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2018, vol. 18, no. 11, pp. 7863-7875. DOI: 10.5194/acp-18-7863-2018. Dostupné také z: <https://www.atmos-chem-phys.net/18/7863/2018/>
- [167] JIANG H., C. M. S. AHMED, A. CANCHOLA a kol. Use of Dithiothreitol Assay to Evaluate the Oxidative Potential of Atmospheric Aerosols. *Atmosphere*. 2019, vol. 10, no. 571. DOI: 10.3390/atmos10100571. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2073-4433/10/10/571>
- [168] KUMAGAI Y., S. KOIDE, K. TAGUCHI a kol. Oxidation of proximal protein sulfhydryls by phenanthraquinone, a component of diesel exhaust particles. *Chemical Research in Toxicology*. 2002, vol 15, no. 4, pp. 483-489. DOI: 10.1021/tx0100993. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/tx0100993>
- [169] CHO A. K., C. SIOUTAS, A. H. MIGUEL a kol. Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin. *Environmental Research*. 2005, vol. 99, no. 1, pp. 40-47. DOI: 10.1016/j.envres.2005.01.003. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935105000058?via%3Dihub>
- [170] WANG J., X. LIN, L. LU a kol. Temporal variation of oxidative potential of water soluble components of ambient PM2.5 measured by dithiothreitol (DTT) assay. *Science of The Total Environment*. 2019, vol. 649, pp. 969-978. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.375. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718333461>
- [171] GAO D., S. RIPLEY, S. WEICHENTHAL a K. J. G. POLLITT. Ambient particulate matter oxidative potential: Chemical determinants, associated health effects, and strategies for risk management. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020, vol 151, no. 1, pp. 7-25. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.04.028. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584920308261?via%3Dihub>
- [172] BATES J. T., T. FANG, V. VERMA a kol. Review of Acellular Assays of Ambient Particulate Matter Oxidative Potential: Methods and Relationships with Composition, Sources, and Health Effects. *Environmental Science and Technology*. 2019, vol. 53, no. 8, pp. 4003-4019. DOI: 10.1021/acs.est.8b03430. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.8b03430>
- [173] RAO L., L. ZHANG, X. WANG a kol. Oxidative Potential Induced by Ambient Particulate Matters with Acellular Assays: A Review. *Processes*. 2020, vol. 8, no. 11.

- DOI: 10.3390/pr8111410. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2227-9717/8/11/1410>
- [174] WANG Y., M. J. PLEWA, U. K. MUKHERJEE a V. VERMA. Assessing the cytotoxicity of ambient particulate matter (PM) using Chinese hamster ovary (CHO) cells and its relationship with the PM chemical composition and oxidative potential. *Atmospheric Environment*. 2018, vol 179, pp. 132-141. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2018.02.025. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231018301031?via%3Dihub>
- [175] DELFINO R., N. STAIMER, T. TJOA a kol. Airway inflammation and oxidative potential of air pollutant particles in a pediatric asthma panel. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. 2013, vol. 23, pp. 466-473. DOI: 10.1038/jes.2013.25. Dostupné také z: <https://www.nature.com/articles/jes201325>
- [176] BATES J. T., R. J. WEBER, J. ADAMS a kol. Reactive Oxygen Species Generation Linked to Sources of Atmospheric Particulate Matter and Cardiorespiratory Effects. *Environmental Science and Technology*. 2015, vol. 49, no. 22, pp. 13605-13612. DOI: 10.1021/acs.est.5b02967. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.5b02967>
- [177] CALAS A., G. UZU, F. J. FRANK a kol. Comparison between five acellular oxidative potential measurement assays performed with detailed chemistry on PM₁₀ samples from the city of Chamonix (France). *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2018, vol. 18, no. 11, pp. 7863-7875. DOI: 10.5194/acp-18-7863-2018. Dostupné také z: <https://acp.copernicus.org/articles/18/7863/2018/>
- [178] GAO D., K. J. G. POLLITT, J. A. MULHOLLAND a kol. Characterization and comparison of PM_{2.5} oxidative potential assessed by two acellular assays. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2020, vol. 20, no. 9, pp. 5197-5210. DOI: 10.5194/acp-20-5197-2020. Dostupné také z: <https://acp.copernicus.org/articles/20/5197/2020/>
- [179] PIETROGRANDE M. C., I. BERTOLI, F. MANARINI a M. RUSSO. Ascorbate assay as a measure of oxidative potential for ambient particles: Evidence for the importance of cell-free surrogate lung fluid composition. *Atmospheric Environment*. 2019, vol. 211, no. 15, pp. 103-112. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2019.05.012. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231019303115?via%3Dihub>
- [180] CONTE E., S. CANEPARI, D. FRASCA a G. SIMONETTI. Oxidative Potential of Selected PM Components. *Proceedings*. 2017, vol. 1, no. 5, pp. 1-12. DOI: 10.3390/ecas2017-04131. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2504-3900/1/5/108>
- [181] HEDAYAT F., S. STEVANOVIC, B. MILJEVIC a kol. Review-evaluating the molecular assays for measuring the oxidative potential of particulate matter. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2015, vol. 21, pp. 201-210. DOI: 10.2298/CICEQ140228031H. Dostupné také z: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=1451-93721400031H>
- [182] SMICHOWSKI P., D. GOMEZ a G. POLLA. The Role of Atomic Spectrometric Techniques in the Determination of Chemical Elements in Atmospheric Aerosols. *Current Analytical Chemistry*. 2005, vol. 1, no. 3, pp. 373-394. DOI: 10.2174/157341105774573947.

- [183] PÖSCHL Ulrich. Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effects. *Angewandte Chemie International Edition*. 2005, vol. 44, no. 46, pp. 7520-7540. DOI: 10.1002/anie.200501122. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200501122>
- [184] WILSON W. E., J. C. CHOW, C. CLAIBORN a kol. Monitoring of particulate matter outdoors. *Chemosphere*. 2002, vol. 49, no. 9, pp. 1009-1043. DOI: 10.1016/S0045-6535(02)00270-9. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653502002709>
- [185] SMICHOVSKI P., G. POLLA a D. GÓMEZ. Metal fractionation of atmospheric aerosols via sequential chemical extraction: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005, vol. 381, no. 2, pp. 302-316. DOI: 10.1007/s00216-004-2849-x. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-004-2849-x>
- [186] SOLOMON P. A., M. P. FRASER a P. HERCKES. Methods for Chemical Analysis of Atmospheric Aerosols. *Aerosol Measurement*. Hoboken, NJ, USA, 2011, pp. 153-177. DOI: 10.1002/9781118001684.ch9. ISBN 9781118001684. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9781118001684.ch9>
- [187] PANNE U., R. E. NEUHAUSER, M. THEISEN a kol. Analysis of heavy metal aerosols on filters by laser-induced plasma spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 2001, vol. 56, no. 6, pp. 839-850. DOI: 10.1016/S0584-8547(01)00209-9. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0584854701002099>
- [188] MIHALJEVIČ M., L. STRNAD a O. ŠEBEK. Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii. *Chemické Listy* [online]. 2004, vol. 98, pp. 123-130 [cit. 2019-04-24]. Dostupné z: http://www.w.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_03_02.pdf
- [189] ČERNOHORSKÝ T., V. ČERVENÝ, B. DOČEKAL a kol. *Atomová absorpční spektrometrie: kurz AAS I*. V Praze: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci a Vysoká škola chemicko-technologická, 2015. ISBN 978-80-905704-6-7.
- [190] KAŇA Antonín a Oto MESTEK. Atomová absorpční spektrometrie. In: *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. Praha: VŠCHT Praha [cit. 2019-04-24]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/AAS.pdf>
- [191] BRZOBOHATÝ Jan. *Výskyt těžkých kovů v blízkosti dopravních komunikací v Brně*. Brno, 2011. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Mgr. Helena Doležalová Weissmannová, Ph.D.
- [192] PRÖFROCK Daniel a Andreas PRANGE. Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry (ICP-MS) for Quantitative Analysis in Environmental and Life Sciences: A Review of Challenges, Solutions, and Trends. *Applied Spectroscopy*. 2012, vol. 66, no. 8, pp. 843-868. DOI: 10.1366/12-06681. Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1366/12-06681>
- [193] THOMAS Robert. *Practical guide to ICP-MS*. New York, NY: M. Dekker, 2004. Practical spectroscopy, v. 33. ISBN 08-247-5319-4.
- [194] KUBICOVÁ Lenka. *Stanovení kovů ve vinné révě pěstované různými způsoby*. Brno, 2011. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
- [195] *Food Safety Applications in Mass Spectrometry* [online]. Agilent Technologies, 2005 [cit. 2019-04-24]. Dostupné z:

- https://www.agilent.com/cs/library/primers/public/5989-1270EN-AGI_74_combined.pdf
- [196] KLOUDA Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [197] CABOCHE J., P. ESPERANZA, M. BRUNO a L. Y. ALLEMAN. Development of an in vitro method to estimate lung bioaccessibility of metals from atmospheric particles. *Journal of Environmental Monitoring*. 2010, vol. 13, no. 3, pp. 621-630. DOI: 10.1039/C0EM00439A. Dostupné také z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/EM/c0em00439a>
- [198] HPST, s. r. o. Dostupné z: <https://www.hpst.cz/>
- [199] RUDNICK R. L. a S. GAO. Composition of the continental crust. *Treatise on Geochemistry*. 2003, vol. 3, pp. 1-64. DOI: 10.1016/B0-08-043751-6/03016-4. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0080437516030164?via%3Dihub>
- [200] BARBIERI Maurizio. The Importance of Enrichment Factor (EF) and Geoaccumulation Index (Igeo) to Evaluate the Soil Contamination. *Journal of Geology and Geophysics*. 2016, vol. 5 no. 1. DOI: 10.1021/acs.est.8b03430. Dostupné také z: <https://www.longdom.org/abstract/the-importance-of-enrichment-factor-ef-and-geoaccumulation-index-igeo-to-evaluate-the-soil-contamination-40433.html>
- [201] BLANCHARD D. G., N. E. LOUIS, ABDOURAHIMI a kol. Environmental Pollution by Heavy Metals in the Gold Mining Region of East Cameroon. *American Journal of Environmental Sciences*. 2018, vol. 14, no. 5, pp. 212-225. DOI: 10.3844/ajessp.2018.212.225.
- [202] LHOTKA R., P. POKORNÁ a N. ZÍKOVÁ. Long-Term Trends in PAH Concentrations and Sources at Rural Background Site in Central Europe. *Atmosphere*. 2019, vol. 10, no. 11. DOI: 10.3390/atmos10110687. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2073-4433/10/11/687>
- [203] POKORNÁ P, J. SCHWARZ, R. KREJČÍ a kol. Comparison of PM 2.5 chemical composition and sources at a rural background site in Central Europe between 1993/1994/1995 and 2009/2010: Effect of legislative regulations and economic transformation on the air quality. *Environmental Pollution*. 2018, vol. 241, pp. 841-851. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.06.015. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749118312120?via%3Dihub>
- [204] CESARI D., F. AMATO, M. PANDOLFI a kol. An inter-comparison of PM10 source apportionment using PCA and PMF receptor models in three European sites. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016, vol. 23, pp. 15133-15148. DOI: 10.1007/s11356-016-6599-z. Dostupné také z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-016-6599-z>
- [205] BHUYAN P., P. DEKA, A. PRAKASH a kol. Chemical characterization and source apportionment of aerosol over mid Brahmaputra Valley, India. *Environmental Pollution*. 2018, vol. 234, pp. 997-1010. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.12.009. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749117350261?via%3Dihub>
- [206] POLLISSAR A. V., P. K. HOPKE, P. PAATERO a kol. Atmospheric aerosol over Alaska: 2. Elemental composition and sources. *Journal of Geophysical Research*

- Atmospheres*. 1998, vol. 103, no. 15, pp. 19045-19057. DOI: 10.1029/98JD01212. Dostupné také z: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/98JD01212>
- [207] CONTINI D., D. CESARI, A. GENGA a kol. Source apportionment of size-segregated atmospheric particles based on the major water-soluble components in Lecce (Italy). *Science of the Total Environment*. 2014, vol. 472, pp. 248-261. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.10.127. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971301303X?via%3Dihub>
- [208] DIAPOULI E., M. MANOUSAKAS, S. VRATOLIS a kol. Evolution of air pollution source contributions over one decade, derived by PM10 and PM2.5 source apportionment in two metropolitan urban areas in Greece. *Atmospheric Environment*. 2017, vol. 164, pp. 416-430. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2017.06.016. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231017303965?via%3Dihub>
- [209] KOZÁKOVÁ J., P. POKORNÁ, P. VODIČKA a kol. The influence of local emissions and regional air pollution transport on a European air pollution hot spot. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019, vol. 26, pp. 1675-1692. DOI: 10.1007/s11356-018-3670-y. Dostupné také z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-018-3670-y>
- [210] U.S. EPA. *Risk Assessment Guidance for Superfund Volume I: Human Health Evaluation Manual (Part F, Supplemental Guidance for Inhalation Risk Assessment)*. Office of Superfund Radiation and Technology Innovation Environmental Protection Agency, Washington, D.C., USA.
- [211] HERNÁNDEZ-PELLÓN A., W. NISCHKAUER, A. LIMBECK a I. FERNÁNDEZ-OLMO. Metal(loid) bioaccessibility and inhalation risk assessment: A comparison between an urban and an industrial area. *Environmental Research*. 2018, vol 165, pp. 140-149. DOI: 10.1016/j.envres.2018.04.014. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935118302147?via%3Dihub>
- [212] NIE D., Y. WU, M. CHEN a kol. Bioaccessibility and health risk of trace elements in fine particulate matter in different simulated body fluids. *Atmospheric Environment*. 2018, vol. 186, pp. 1-8. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2018.05.024. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231018303273?via%3Dihub>
- [213] International Agency for Research on Cancer (IARC). *IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans*. World Health Organization. 1965. Dostupné také z: <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>
- [214] VAN DER WAL J. T. a L. H. J. M. JANSSEN. Analysis of spatial and temporal variations of PM 10 concentrations in the Netherlands using Kalman filtering. *Atmospheric Environment*. 2000, vol. 34, no. 22, pp. 3675-3687. DOI: 10.1016/S1352-2310(00)00085-6. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231000000856>
- [215] XIANG Y., T. ZHANG, J. LIU a kol. Atmosphere boundary layer height and its effect on air pollutants in Beijing during winter heavy pollution. *Atmospheric Research*. 2019, vol. 215, pp. 305-316. DOI: 10.1016/j.atmosres.2018.09.014. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169809518307130?via%3Dihub>
- [216] MIKUŠKA P., M. VOJTĚŠEK, K. KŘŮMAL a kol. Characterization and Source Identification of Elements and Water-Soluble Ions in Submicrometre Aerosols in Brno and Šlapanice (Czech Republic). *Atmosphere*. 2020, vol. 11, no. 7. DOI:

- 10.3390/atmos11070688. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2073-4433/11/7/688>
- [217] NORDBERG G. F., B. A. FOWLER, M. NORDBERG a L. T. FRIBERG. Handbook on the toxicology of metals, third ed. Elsevier, UK. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123694133/handbook-on-the-toxicology-of-metals?via=ihub=>
- [218] CHAKRABORTY A. a T. GUPTA. Chemical Characterization and Source Apportionment of Submicron (PM₁) Aerosol in Kanpur Region, India. *Aerosol and Air Quality Research*. 2010, vol. 10, no. 5. DOI: 10.4209/aaqr.2009.11.0071. Dostupné také z: <https://aaqr.org/articles/aaqr-09-11-0a-0071>
- [219] YU J., C. YAN, Y. LIU a kol. Potassium: A Tracer for Biomass Burning in Beijing? *Aerosol and Air Quality Research*. 2018, vol. 18, no. 9. DOI: 10.4209/aaqr.2017.11.0536. Dostupné také z: <https://aaqr.org/articles/aaqr-17-11-maps-0536>
- [220] TITOS G., H. LYAMANI, M. PANDOLFI a kol. Identification of fine (PM₁) and coarse (PM₁₀₋₁) sources of particulate matter in an urban environment. *Atmospheric Environment*. 2014, vol. 89, pp. 593-602. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2014.03.001. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231014001629?via%3Dihub>
- [221] SUDHEER A. K. a R. RENGARAJAN. Atmospheric Mineral Dust and Trace Metals over Urban Environment in Western India during Winter. *Aerosol and Air Quality Research*. 2012, vol. 12, no. 5. DOI: 10.4209/aaqr.2011.12.0237. Dostupné také z: <https://aaqr.org/articles/aaqr-11-12-0a-0237>
- [222] MOHAMMED G., G. KARANI a D. MITCHELL. Trace Elemental Composition in PM₁₀ and PM_{2.5} Collected in Cardiff, Wales. *Energy Procedia*. 2017, vol. 111, pp. 540-547. DOI: 10.1016/j.egypro.2017.03.216. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876610217302461?via%3Dihub>
- [223] AL-MOMANI I. F. a W. M. SHATNAWI. Chemical Characterization and Source Determination of Trace Elements in PM_{2.5} and PM₁₀ from an Urban Area, Northern Jordan. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*. 2017, vol. 5, no. 4, pp. 103-108. DOI: 10.11648/j.ijema.20170504.12. Dostupné také z: <http://www.sciencepublishinggroup.com/journal/paperinfo?journalid=162&doi=10.11648/j.ijema.20170504.12>
- [224] VIANA M., T. A. J. KUHLBUSCH, X. QUEROL a kol. Source apportionment of particulate matter in Europe: A review of methods and results. *Journal of Aerosol Science*. 2008, vol. 39, no. 10, pp. 827-849. DOI: 10.1016/j.jaerosci.2008.05.007. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021850208001018>
- [225] HOPKE Philip K. Review of receptor modeling methods for source apportionment. *Journal of the Air and Waste Management Association*. 2015, vol. 66, no. 3, pp. 237-259. DOI: 10.1080/10962247.2016.1140693. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10962247.2016.1140693>
- [226] VOSSLER T., L. ČERNIKOVSKÝ, J. NOVÁK a R. WILLIAMS. Source apportionment with uncertainty estimates of fine particulate matter in Ostrava, Czech Republic using Positive Matrix Factorization. *Atmospheric Pollution Research*. 2016,

- vol. 7, no. 3, pp. 503-512. DOI: 10.1016/j.apr.2015.12.004. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1309104215300477?via%3Dihub>
- [227] CALAS A., G. UZU, J. M. F. MARTINS a kol. The importance of simulated lung fluid (SLF) extractions for a more relevant evaluation of the oxidative potential of particulate matter. *Scientific Reports*. 2017, vol. 7. DOI: 10.1038/s41598-017-11979-3. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5599505/>
- [228] BOISA N., N. ELOM, J. R. DEAN a kol. Development and application of an inhalation bioaccessibility method (IBM) for lead in the PM₁₀ size fraction of soil. *Environment International*. 2014, vol. 70, pp. 132-142. DOI: 10.1016/j.envint.2014.05.021. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412014001718?via%3Dihub>
- [229] HUANG X., R. BETHA, L. Y. TAN a kol. Risk assessment of bioaccessible trace elements in smoke haze aerosols versus urban aerosols using simulated lung fluids. *Atmospheric Environment*. 2016, vol. 125, Part B, pp. 505-511. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2015.06.034. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231015301758?via%3Dihub>
- [230] FALTA T., A. LIMBECK, G. KOELLENSPERGER a S. HANN. Bioaccessibility of selected trace metals in urban PM_{2.5} and PM₁₀ samples: a model study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2008, vol. 390, pp. 1149-1157. DOI: 10.1007/s00216-007-1762-5. Dostupné také z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-007-1762-5>
- [231] HEDBERG Y., J. GUSTAFSSON, H. L. KARLSSON a kol. Bioaccessibility, bioavailability and toxicity of commercially relevant iron- and chromium-based particles: in vitro studies with an inhalation perspective. *Particle and Fiber Toxicology*. 2010, vol. 7, no. 23. DOI: 10.1186/1743-8977-7-23. Dostupné také z: <https://particleandfibretoxicology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-8977-7-23>
- [232] MEZA-FIGUEROA D., M. BARBOZA-FLORES, F. M. ROMERO a kol. Metal bioaccessibility, particle size distribution and polydispersity of playground dust in synthetic lysosomal fluids. *Science of the Total Environment*. 2020, vol. 713. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.136481. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719364770?via%3Dihub>
- [233] OLANIRAN A. O., A. BALGOBIND a B. PILLAY. Bioavailability of Heavy Metals in Soil: Impact on Microbial Biodegradation of Organic Compounds and Possible Improvement Strategies. *International Journal of Molecular Science*. 2013, vol. 14, no. 5, pp. 10197-10228. DOI: 10.3390/ijms140510197. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3676836/>
- [234] ANDRUNIK M., M. WOLOWIEC, D. WOJNARSKI a kol. Transformation of Pb, Cd, and Zn Minerals Using Phosphates. *Minerals*. 2020, vol. 10, no. 342. DOI: 10.3390/min10040342. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2075-163X/10/4/342>
- [235] VOUTSA D. a C. SAMARA. Labile and bioaccessible fractions of heavy metals in the airborne particulate matter from urban and industrial areas. *Atmospheric Environment*. 2002, vol. 36, no. 33, pp. 3583-3590. DOI: 10.1016/S1352-2310(02)00282-0. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231002002820>
- [236] GHANEM M., E. PEDRIX, L. Y. ALLEMAN a kol. Phosphate Buffer Solubility and Oxidative Potential of Single Metals or Multielement Particles of Welding Fumes. *Atmosphere*. 2021, vol. 12, no. 3. DOI: 10.3390/atmos12010030.

- [237] LI S., L. DU, N. T. TSONA a W. WANG. The interaction of trace heavy metal with lipid monolayer in the sea surface microlayer. *Chemosphere*. 2018, vol. 196, pp. 323-330. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.157. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653517321355?via%3Dihub>
- [238] KREZEL A., W. LESNIAK, M. JEZOWSKA-BOJCZUK a kol. Coordination of heavy metals by dithiothreitol, a commonly used thiol group protectant. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2001, vol. 84, no. 1-2, pp. 77-88. DOI: 10.1016/S0162-0134(00)00212-9. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0162013400002129>
- [239] KACHUR A. V., K. D. HELD, C. J. KOCH a J. E. BIAGLOW. Mechanism of Production of Hydroxyl Radicals in the Copper-Catalyzed Oxidation of Dithiothreitol. *Radiation Research*. 1997, vol. 147, no. 4, pp. 409-415. DOI: 10.2307/3579496
- [240] VREELAND H., R. WEBER, M. BERGIN a kol. Oxidative potential of PM_{2.5} during Atlanta rush hour: Measurements of in-vehicle dithiothreitol (DTT) activity. *Atmospheric Environment*. 2017, vol. 165, pp. 169-178. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2017.06.044. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231017304259>
- [241] YU S., W. LIU, Y. XU a kol. Characteristics and oxidative potential of atmospheric PM_{2.5} in Beijing: Source apportionment and seasonal variation. *Science of the Total Environment*. 2019, vol. 650, Part 1, pp. 277-287. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.021. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718334399>
- [242] CHARRIER J. G., N. K. RICHARDS-HENDERSON, K. J. BEIN a kol. Oxidant production from source-oriented particulate matter – Part 1: Oxidative potential using the dithiothreitol (DTT) assay. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2015, vol. 15, pp. 2327-2340. DOI: 10.5194/acp-15-2327-2015. Dostupné také z: <https://acp.copernicus.org/articles/15/2327/2015/>
- [243] FANG T., V. VERMA, H. GUO a kol. A semi-automated system for quantifying the oxidative potential of ambient particles in aqueous extracts using the dithiothreitol (DTT) assay: results from the Southeastern Center for Air Pollution and Epidemiology (SCAPE). *Atmospheric Measurement Techniques*. 2015, vol. 8, pp. 471-482. DOI: 10.5194/amt-8-471-2015. Dostupné také z: <https://amt.copernicus.org/articles/8/471/2015/amt-8-471-2015-discussion.html>
- [244] PATEL Anil a Neeraj RASTOGI. Oxidative potential of ambient fine aerosol over a semi-urban site in the Indo-Gangetic Plain. *Atmospheric Environment*. 2018, vol. 175, pp. 127-134. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2017.12.004. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231017308282?via%3Dihub>
- [245] ZHANG X., Z. LI, F. WANG a kol. Carbonaceous Aerosols in PM₁, PM_{2.5}, and PM₁₀ Size Fractions over the Lanzhou City, Northwest China. *Atmosphere*. 2020, vol. 11, no. 1368. DOI: 10.3390/atmos11121368. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2073-4433/11/12/1368>
- [246] DENNIS N. A., H. M. BLAUER a J. E. KENT. Dissolution fractions and half-times of single source yellowcake in simulated lung fluids. *Health Physics*. 1982, vol. 42, no. 4, pp. 469-477. DOI: 10.1097/00004032-198204000-00007
- [247] MARQUES M. R. C., R. LOEBENBERG a M. ALMUKAINZI. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. *Dissolution Technologies*.

- 2011, vol. 18, no. 3, pp. 15-28. DOI: 10.14227/DT180311P15. Dostupné také z: http://dissolutiontech.com/DTresour/201108Articles/DT201108_A02.pdf
- [248] CROSS C. E., A. VAN DER VLIET, CH. A. O'NEIL a kol. Oxidants, Antioxidants, and Respiratory Tract Lining Fluids. *Environmental Health Perspectives*. 1994, vol. 10, pp. 185-191. DOI: 10.1289/ehp.94102s10185
- [249] INNES E., H. H. P. YIU, P. McLEAN a kol. Simulated biological fluids – a systematic review of their biological relevance and use in relation to inhalation toxicology of particles and fibres. *Critical Reviews in Toxicology*. 2021, vol. 51, no. 3. DOI: 10.1080/10408444.2021.1903386. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408444.2021.1903386>
- [250] REIZER M., G. CALZOLAI, K. MACIEJEWSKA a kol. Measurement report: Receptor modeling for source identification of urban fine and coarse particulate matter using hourly elemental composition. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 2021, vol. 21, no. 19, pp. 14471-14492. DOI: 10.5194/acp-21-14471-2021. Dostupné také z: <https://acp.copernicus.org/articles/21/14471/2021/>
- [251] JUDA-REZLER K., M. REIZER, K. MACIEJEWSKA a kol. Characterization of atmospheric PM_{2.5} sources at a Central European urban background site. *Science of the Total Environment*. 2020, vol. 713. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.136729. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720302394?via%3Dihub>
- [252] SHAHPOURY P., Z. W. ZHANG, A. ARANGIO a kol. The influence of chemical composition, aerosol acidity, and metal dissolution on the oxidative potential of fine particulate matter and redox potential of the lung lining fluid. *Environment International*. 2021, vol. 148. DOI: 10.1016/j.envint.2020.106343. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412020322984?via%3Dihub>
- [253] DAHER N., Z. NING, A. K. CHO a kol. Comparison of the Chemical and Oxidative Characteristics of Particulate Matter (PM) Collected by Different Methods: Filters, Impactors, and BioSamplers. *Aerosol Science and Technology*. 2011, vol. 45, no. 11, pp. 1294-1304. DOI: 10.1080/02786826.2011.590554. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02786826.2011.590554>
- [254] FANG T., P. S. J. LAKEY, R. J. WEBER a M. SHIRAIWA. Oxidative Potential of Particulate Matter and Generation of Reactive Oxygen Species in Epithelial Lining Fluid. *Environmental Science & Technology*. 2019, vol. 53, no. 21, pp. 12784-12792. DOI: 10.1021/acs.est.9b03823. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.9b03823>
- [255] DELGADO-SABORIT J., M. S. ALAM, K. J. G. POLLIT a kol. Analysis of atmospheric concentrations of quinones and polycyclic aromatic hydrocarbons in vapour and particulate phases. *Atmospheric Environment*. 2013, vol. 77, pp. 974-982. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2013.05.080. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231013004536>
- [256] NISHITA-HARA C., M. HIRABAYASHI, K. HARA a kol. Dithiothreitol-Measured Oxidative Potential of Size-Segregated Particulate Matter in Fukuoka, Japan: Effects of Asian Dust Events. *GeoHealth*. 2019, vol. 3, no. 6, pp. 160-173. DOI: 10.1029/2019GH000189. Dostupné také z: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1029/2019GH000189>