



VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Klasifikace: Draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Oponovaný draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Finální dokument	<input type="checkbox"/> <i>Pro oficiální použití</i>
Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/> <i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

**Nitrované polycyklické uhlovodíky (nitroPAH):
environmentální karcinogeny**

Poznámka:

VVF-09-04

Zpracovatel: Doc. Ing. Vladimír Kocourek, CSc.

ve spolupráci s Prof. Ing. Janou Hajšlovou, CSc. (VŠCHT)

Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 PRAHA 6 - Ruzyně

Tel.: +420 233 022 324 , fax.: +420 233 311 591, URL: <http://www.phytosanitary.org>

1	ÚVOD	2
2	NITRODERIVÁTY POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ V OVZDUŠÍ A NA ROSTLINÁCH.	3
2.1	EMISNÍ ZDROJE NITRODERIVÁTŮ PAH.....	7
2.2	KONCENTRACE NITRODERIVÁTŮ PAH V OVZDUŠÍ.....	8
2.3	NÁLEZY NITRODERIVÁTŮ PAH V ROSTLINÁCH, PLODINÁCH A V POTRAVINÁCH.....	13
3	METODY HODNOCENÍ ZÁTĚŽE AGRÁRNÍCH EKOSYSTÉMŮ PAH A JEJICH DERIVÁTY	15
3.1	VZORKOVÁNÍ OVZDUŠÍ.....	16
3.2	ROSTLINNÉ BIOINDIKÁTORY	17
3.3	STANDARDIZOVANÉ PASIVNÍ VZORKOVACÍ TECHNIKY	18
4	MONITORING PAH A JEJICH NITRODERIVÁTŮ V OVZDUŠÍ [101].....	22
5	VZTAHY MEZI KONCENTRACEMI PAH A NITROPAH V OVZDUŠÍ, SPMD A VEGETACI.....	30
6	TOXICKÉ PŮSOBENÍ NITRODERIVÁTŮ PAH NA ŽIVÉ ORGANISMY	33
7	ANALYTICKÉ METODY	35
8	ZÁVĚRY	38
9.	LITERATURA	40

1 Úvod

Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou běžnou součástí všech složek životního prostředí kam pronikají jak z přírodních, tak i průmyslových zdrojů. Přirozená rovnováha mezi produkcí a degradací PAH byla narušena v 19. a 20. století především díky průmyslové revoluci. Až z 90 % je tento nárůst koncentrací způsoben nedokonalým spalováním uhlí, ropy, nafty a dřeva [1]. Přírodní zdroje zahrnují hlavně lesní a stepní požáry a vulkanickou činnost a jen ve zcela nepatrné míře i biosyntézu terestrickou vegetací nebo mikrobiální syntézu [2 - 4]. Příspěvky přírodních zdrojů k celkové kontaminaci životního prostředí, jsou však ve srovnání s antropogenními příspěvky minoritní.

Značná pohyblivost PAH mezi jednotlivými složkami životního prostředí a především možnost dálkového atmosférického transportu jsou příčinou kontaminace prakticky všech složek prostředí. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) se vyskytují v životním prostředí jen ve stopových koncentracích, avšak biologická aktivita některých z nich je významná, neboť se jedná o persistentní sloučeniny s významnými toxickými účinky, mezi které patří prokázaná kancerogenita.

Stejně jako PAH, jsou i jejich nitroderiváty v životním prostředí prakticky všudypřítomné a své mateřské sloučeniny zpravidla doprovázejí. V ovzduší se běžně vyskytují v koncentracích okolo $10^{-2} - 10^2 \text{ ng.m}^{-3}$, tj. na hladinách až o několik řádů nižších než mateřské uhlovodíky. Jejich zdrojem jsou jednak samotné spalovací procesy a jednak atmosférické reakce, kdy nitroPAH vznikají radikálově iniciovanými reakcemi mezi mateřskými PAH a oxidy dusíku přítomnými ve znečištěném ovzduší. Nitroderiváty setrvávají v ovzduší relativně dlouho a sorbují se na respirabilní prachové částice. Ve srovnání s PAH jsou velmi silnými mutageny, a řada z nich má rovněž kancerogenní účinky [5].

Významná může být také kontaminace plodin a potravin nitroderiváty PAH, pocházejícími jednak ze životního prostředí (imise, půda) a jednak z některých výrobních procesů [6]. Potenciální genotoxické účinky nitroPAH ve spojitosti s jejich ubikvitárním výskytem přitom vzbuzují v posledních letech nemalou pozornost.

2 Nitroderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků v ovzduší a na rostlinách.

Kromě spalovacích procesů mohou nitroPAH vznikat radikálově iniciovanými reakcemi mezi mateřskými PAH a oxidy dusíku nebo kyselinou dusičnou, přítomnými ve znečištěném ovzduší. Kyselina dusičná i oxidy dusíku mohou PAH substituovat nebo oxidovat za vzniku mono- a dinitroderivátů. Oxidy dusíku přitom působí jako vlastní nitrační činidlo a kyselina dusičná se reakce účastní pouze jako katalyzátor.

Nitroderiváty PAH vznikající radikálově iniciovanými atmosferickými reakcemi jsou odlišné od izomerů produkovaných elektrofilní nitrací PAH při spalovacích procesech. Například silně mutagenní a/nebo karcinogenní 6-nitrochrysen, 2-nitrofluoranthén, 2-nitropyren a 4-nitropyren, které jsou běžně nacházeny v atmosféře, se nepodařilo identifikovat ve výfukových plynech diesellových motorů. Tyto nitroPAH jsou pravděpodobně tvořeny až v atmosféře reakcí PAH. V zásadě lze tedy rozlišit dvě skupiny nitroPAH:

1. nitroPAH emitované spalovacími procesy a
2. nitroPAH vznikající v atmosféře radikálově iniciovanými reakcemi v plynné fázi z PAH.

Pro PAH je typická snaha o zachování konjugovaného systému, takže tvoří deriváty spíše elektrofilní substitucí než adicí. Pravděpodobnost reakce PAH adičním mechanismem vzrůstá se zvyšujícím se počtem jader v důsledku vzrůstající stability vznikajících derivátů. Na reaktivitu jednotlivých PAH má vliv také teplota, intenzita záření, obsah kyslíku, ozonu, dalších oxidačních látek a přítomnost pevných atmosférických částic v prostředí, jejich druh a velikost [7].

Navzdory značné stabilitě aromatického jádra může v životním prostředí docházet k relativně rychlé degradaci PAH. Jedná se jak o chemické, tak i fyzikální procesy, které určují osud semivolatilních organických sloučenin v troposféře [8 - 10].

Mezi chemické degradační procesy pro sloučeniny v plynné fázi patří:

- fotolýza ($\lambda \geq 290\text{nm}$)
- reakce s hydroxylovými radikály (převážně ve dne)
- reakce s ozonem
- reakce s radikály oxidů dusíku (převážně v noci)
- reakce s kyselinami (HNO_3 , H_2SO_4 – vznikající z NO_x a SO_x)

Mezi chemické degradační procesy pro sloučeniny vázané na pevných částicích patří:

- fotolýza
- reakce s ozonem
- reakce s kyselinami
- reakce s peroxidem vodíku

Mezi fyzikální procesy eliminace pro sloučeniny přítomné v plynné fázi i vázané na pevných atmosférických částicích patří:

- mokrá depozice (déšť, sníh, mlha)
- suchá depozice (prach)

Fotochemické reakce jsou považovány za nejvýznamnější reakce PAH v plynné i pevné fázi atmosféry. Fotolýza těchto sloučenin je závislá na intenzitě světla, teplotě a relativní vlhkosti [11], na povaze částic včetně jejich složení [12-14]. Organický uhlík chrání tyto sloučeniny před fotolýzou a přítomnost některých organických sloučenin (např. metoxyfenoly) naopak zvyšují rychlost fotolýzy [13, 14].

O aktuálních koncentraci jednotlivých nitroPAH tedy rozhoduje také denní doba. Tak např. koncentrace 2-nitrofluoranthenu je nejvyšší v nočních hodinách, což svědčí o jeho tvorbě bez účasti slunečního záření.

Celkově je množství nitroPAH vytvořených v atmosféře podstatně vyšší, než množství nitroPAH vzniklých přímo při spalovacích procesech [15].

Fyzikálně–chemické vlastnosti nitroPAH jsou velmi podobné jejich mateřským látkám. Obecně je lze charakterizovat jako semivolatilní lipofilní látky. S rostoucí molekulovou hmotností se zvyšuje bod tání, bod varu, lipofilita (rozdělovací koeficient n-oktanol/voda – K_{OW}), a naopak klesá rozpustnost ve vodě a tenze par. Nízkomolekulární nitroPAH jsou v prostředí relativně pohyblivé, zatímco sloučeniny s vyšší molekulovou hmotností jsou (vzhledem k vyšším molekulovým objemům, nízké těkavosti a rozpustnosti) relativně immobilní [16]. S vysokými hodnotami rozdělovacího koeficientu oktanol/voda je spojena schopnost kumulace dané látky v sedimentech či v tukové složce biotických matric včetně potravin.

Některé fyzikálně – chemické vlastnosti vybraných nitroPAH včetně jejich strukturních vzorců jsou uvedeny v tabulce I a na obrázku 1.

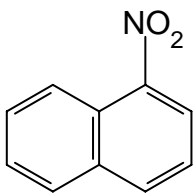
Tabulka I: Přehled vybraných fyzikálně-chemických vlastností nitroPAH [17]

Sloučenina	počet aromatických jader	Molekulová hmotnost (Da)	bod tání [°C]	bod varu [°C]	log K _{ow} *
1-nitronaftalen	2	173,17	59-60	304	3,32
2-nitronaftalen	2	173,17	79	165	3,24
2-nitrofluoren	3	211,22	-	157-158	3,37
9-nitroantracen	3	223,23	145-146	275	4,78
3-nitrofluoranthen	4	247,25	159-160	-	4,75
1-nitropyren	4	247,25	153-154	-	4,69
7-nitrobenzo[a]antracen	4	273,29	159-160	-	5,34
6-nitrochrysen	4	273,29	205,5-209	-	5,34
6-nitrobenzo[a]pyren	5	276,34	222	-	5,93

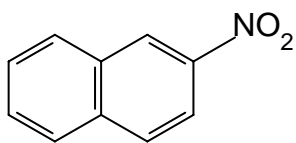
* při 25 °C

Reakční produkty PAH jsou vždy polárnějšího charakteru než mateřské PAH a navíc jsou i méně těkavé a budou tedy spíše vázané na pevné částice. Díky reaktivitě PAH v plynném stavu je sice omezen atmosférický transport PAH a nitroPAH v parní fázi, avšak jsou-li tyto sloučeniny sorbovány na povrch pevných částic, mohou bez potíží podstoupit dlouhý atmosférický transport (viz též [čl. 3.1](#)). Například 2-nitrofluoranthen je v atmosféře tvořen pouze v plynné fázi radikálovou reakcí fluoranthenu, a přesto se nachází v ovzduší po celém světě vázán na pevných atmosférických částicích [18 - 19].

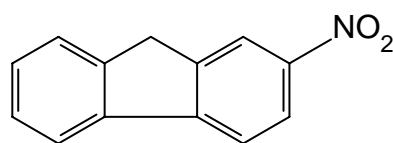
Obr. 1: Strukturální vzorce vybraných nitroPAH



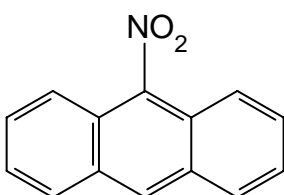
1-nitronaftalen



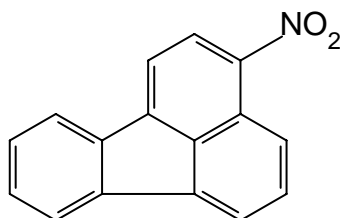
2-nitronaftalen



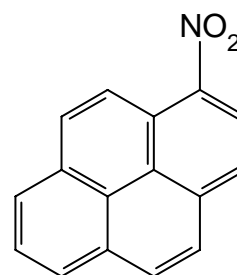
2-nitrofluoren



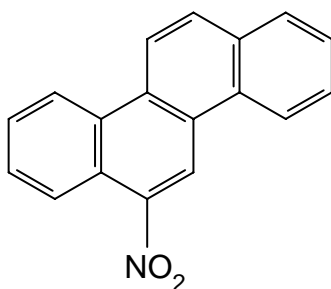
9-nitroantracen



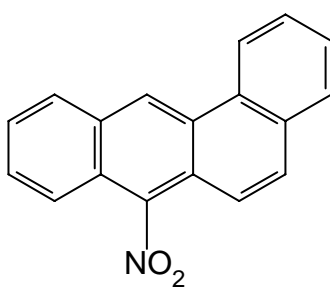
3-nitrofluoranthen



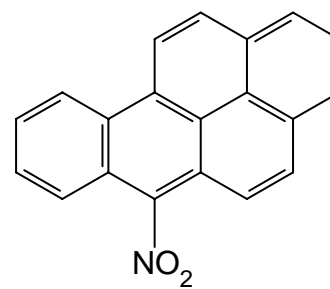
1-nitropyren



6-nitrochrysen



7-nitrobenzo[a]antracen



6-nitrobenzo[a]pyren

2.1 Emisní zdroje nitroderivátů PAH

Všechny významné zdroje emisí PAH do složek životního prostředí jsou současně i potenciálními (nebo dokonce přímými) zdroji znečištění nitroPAH, které z těchto polutantů mohou za určitých podmínek vznikat, zejména již zmíněnými atmosférickými reakcemi.

NitroPAH byly prokázány zejména ve výfukových plynech dieselových a (v menší míře i benzinových) motorů, kde bylo identifikováno více než 50 různých sloučenin tohoto typu, dále ve spalínách ze stacionárních zdrojů, v sazích, v kapalných produktech tepelného zpracování uhlí, v polétavých popílcích, v emisích spaloven a závodů na výrobu hliníku, v sedimentech, tonerech pro kopírky, cigaretovém kouři a dokonce i v některých potravinách.

Nitro-deriváty PAH byly ve větší míře nalezeny rovněž v emisích vznikajících při spalování černého uhlí či plynu, a to především v domácích topeništích. Je však pravděpodobné, že nitrace zde probíhá až mimo vlastní spalovací prostor a jedná se tedy o sekundární atmosférické reakce. Pro rozpoznání dominantního zdroje nitroderivátů PAH lze využít charakteristických poměrů koncentrací jednotlivých látek – viz [čl. 2.2](#).

Mateřské PAH mohou být emitovány do ovzduší ve velkých koncentracích rovněž z chemické výroby a nebo z použití různých surovin a produktů na bázi dehtu nebo kreosotu. Dehet a některé produkty jeho destilace jsou široce užívány v průmyslu. Dehet není snadno degradován a jeho přítomnost v půdě se odhaduje až na stovky let, a může tedy být dlouhodobým zdrojem kontaminace podzemních vod. Kreosot byl dříve často používán jako konzervant na dřevo v průmyslu i v domácnostech.

Tabulka II charakterizuje jednotlivé zdroje spalování, stejně jako variabilitu emisí pro každý zdroj. Zdá se, že existují velké rozdíly mezi jednotlivými zeměmi v množství emitovaných PAH z vybraného zdroje. Nitroderiváty PAH jsou většinou spojovány zejména s mobilními zdroji.

Tabulka II: Odhady atmosférických emisí PAH (t.rok⁻¹) podle typu zdroje [20, 21]

Typ zdroje emise PAH	USA	USA	Švédsko	Norsko	V. Británie	V. Británie
Domácí topeniště	3956 (36%)	1380 (16%)	132 (26%)	63 (21%)	604 (84%)	368 (42%)
Prům. procesy	640 (6%)	3497 (41%)	312 (62%)	203 (69%)	19 (3%)	202 (23%)
Pálení odpadů	56 (1%)	50 (1%)	2 (1%)	1 (0%)	0,06 (0%)	0,47 (0%)
Otevřené hoření	4025 (36%)	1100 (13%)	2 (1%)	7 (2%)	6,3 (1%)	38 (5%)
Elektrárny	88 (1%)	401 (5%)	7 (1%)	1 (0%)	5,8 (1%)	5 (1%)
Mobilní zdroje	2266 (21%)	2170 (25%)	47 (9%)	20 (7%)	80 (11%)	260 (29%)
Celkové emise	11 031	8598	502	294	715,2	873,6

Data uvedená v závorce představují relativní příspěvky jednotlivých zdrojů k celkové emisi

Příčinou výskytu mateřských PAH v potravinách mohou být - kromě kontaminace z výše uvedených zdrojů - i některé technologické a kulinární úpravy prováděné během výroby potravin. V extrémních případech, např. připálení tuku, koncentrace PAH ve výrobku prudce stoupá. Významnými prekurzory PAH vzniklými endogenně v poživatinách jsou peptidy, lipidy, sacharidy, terpeny a rostlinné pigmenty. PAH vznikají nejnázve pyrolýzou lipidů a jejich doprovodných látek, zvláště sterolů. Jsou-li však při výrobě potravin použity vhodné technologické postupy, je množství PAH, které se dostane do poživatiny tímto způsobem, minoritní ve srovnání s příspěvkem imisního původu. Za nejvýznamnější zdroj nitroderivátů PAH v potravinách jsou rovněž považovány imise postihující rostlinné produkty.

2.2 Koncentrace nitroderivátů PAH v ovzduší

PAH i nitroPAH se v ovzduší vyskytují jednak ve formě par a jednak sorbované na pevných částicích aerosolu. O distribuci PAH/nitroPAH mezi plynnou fází a tuhé atmosférické částice rozhoduje druh PAH, typ emisního zdroje a meteorologické podmínky. Nízkomolekulární PAH (max. 3 benzenová jádra) jsou v atmosféře většinou přítomny v plynné fázi, zatímco vysokomolekulární PAH (4 a více benzenových jader) jsou spíše vázané na pevné částice. Až 75 % PAH je v atmosféře vázáno na povrch respirabilní frakce částic o průměru do 1 μm .

PAH i nitroPAH jsou z atmosféry odstraňovány suchým a mokřým spadem. Teplota ovzduší přitom silně ovlivňuje relativní zastoupení jednotlivých PAH a nitroPAH ve směsi: při vyšších

teplotách dochází k obohacení plynné fáze těkavějšími sloučeninami, v zimním období naopak dochází ke kondenzaci plynných PAH na povrch částic. Na obrázku 2a je zobrazen průběh sezónní koncentrace některých PAH v ovzduší v Athénách [22].

NitroPAH se v ovzduší vyskytují v koncentracích o několik řádů nižších než mateřské uhlovodíky. V rámci již zmíněného monitoringu ovzduší prováděného v Aténách v roce 1996 byly zjišťovány také koncentrace nitroPAH [22]. Hladiny nitroPAH byly nejvyšší v zimním období, pravděpodobně vzhledem ke klimatickým podmínkám ovlivňujícím distribuci těchto látek v prostředí (obr. 2b). Ke zvýšeným koncentracím přispívá také použití pevných paliv k vytápění domácností v zimním období.

Z poměru koncentrací 2-nitrofluoranthenu and 1-nitropyrenu lze usoudit na relativní příspěvky jednotlivých emisních zdrojů [22, 23]. Poměr 2-nitrofluoranthenu/1-nitropyren menší než 5 je typický pro místa v blízkosti primárních emisních zdrojů, zatímco poměr větší než 5 naznačuje převažující tvorbu nitroderivátů PAH atmosférickými reakcemi.

Hlavním zdrojem 1-nitropyrenu bývají emise ze vznětových (dieselových) motorů, které mají víceméně stejnou intenzitu po celý rok [22, 23]. Rozdíly v poměrech 2-nitrofluoranthenu/1-nitropyren mezi zimním a letním obdobím lze tudíž přičíst zejména rozdílům v atmosférické tvorbě 2-nitrofluoranthenu. Vznik 2-nitrofluoranthenu je totiž závislý na koncentraci reaktantů, fluoranthenu, NO_3 , and OH, která se zvyšuje vždy při vyšších (letních) teplotách a intenzivním slunečním záření.

Poměr 2-nitrofluoranthenu/1-nitropyren se může měnit v důsledku rozdílné rychlosti eliminace těchto sloučenin z atmosféry. Pokud jsou ovšem obě látky sorbovány na tuhé atmosférické částice, lze předpokládat, že pokles koncentrací v atmosféře bude přibližně stejný.

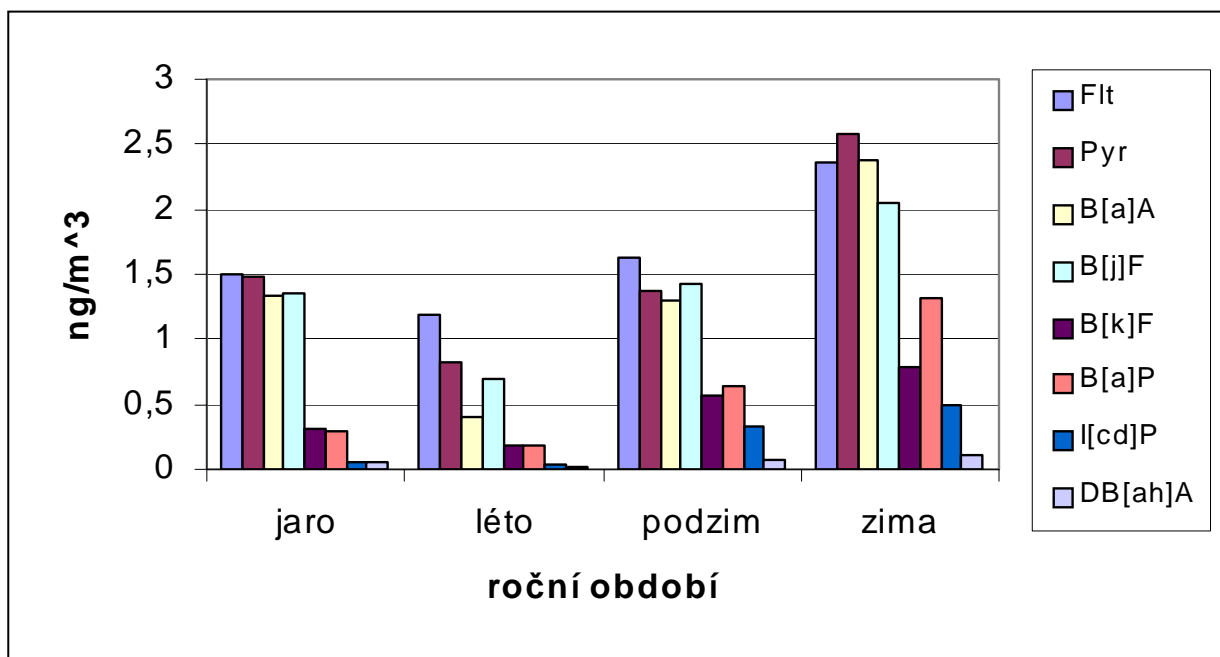
Koncentrace nitroderivátů PAH produkovaných atmosférickými reakcemi jsou většinou úměrné koncentracím oxidů dusíku (NO_x). Pouze 3-nitrofenanthren and 4-nitrofenanthren korelovaly s NO_x negativně a byly jedinými nitroPAH pozitivně korelujícími s koncentracemi přízemního ozonu [24, 25], což ukazuje na odlišný mechanismus jejich tvorby v atmosféře.

V České republice byly nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky monitorovány v průběhu let 1996-1998 v ovzduší Teplic (zatížená oblast) a Prachatic (referenční oblast) [26]. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny u těch nitroPAH, jejichž mateřské sloučeniny mají semivolatilní charakter: naftalen, antracen, fluoranthen a pyren. V Prachaticích byly většinou nacházeny nižší hodnoty než v Teplicích. Z výsledků byl patrný sezónní vliv, s vyššími

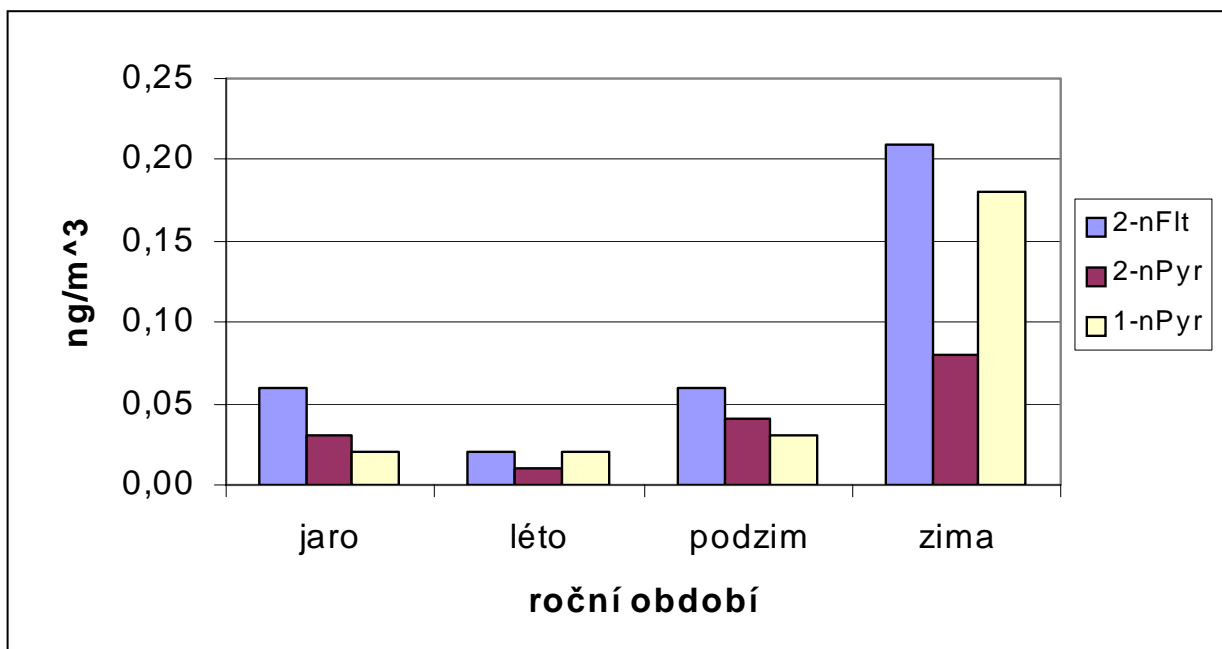
koncentracemi sledovaných analytů v zimním období v obou lokalitách. Na základě získaných údajů je možné pozorovat trend v poklesu koncentrací jednotlivých nitroPAH v zimním, ale i letním období. V Teplicích byly nalezeny nejvyšší průměrné hodnoty 1- a 2-nitronaftalenu a 9-nitroanthracenu v zimě 1996, ale v zimním období 1998-9 již byly naměřeny koncentrace 2-3krát menší.

Dominantní cestou odbourávání atmosférických nitroPAH je zpravidla fotodegradace, ostatní mechanismy se uplatňují méně [23]. Zcela rozdílné rychlosti degradace byly zjišťovány u izomerů nitroPAH: např. fotodegradace 1-nitronaftalenu je výrazně rychlejší nežli u 2-nitronaftalenu, který ale současně degraduje i jinými alternativními cestami. Mechanismy fotodegradace nitropyrenu sorbovaného na celulóзовý nosič a v roztoku byly podrobně popsány a byl navržen dekontaminační postup založený na ozařování UV světlem [27].

Obr. 2a: Sezónní koncentrace některých PAH v ovzduší (Atény, 1996) [22].



Obr. 2b: Sezónní koncentrace některých nitroPAH v ovzduší (Atény, 1996) [22].



Tabulka III: Průměrné koncentrace nitroderivátů PAH v ovzduší

pg/m^3	Baltimore [24]	Fort Meade [24]	Copenhagen [23]	Riso [23]	Bratislava [28]
1-nitronaphthalen	59	23	-	-	82
2-nitronaphthalen	39	24	-	-	94
9-nitroanthracen	64	46	63	30	44
2-nitrofluoranthen	60	49	91	60	11
3-nitrofluoranthen	0,49	0,31	39	32	73
1-nitropyren	27	20	127	30	10
2-nitropyren	6,5	4	20	8	-
7-nitrobenzo[a]anthracen	23	12	-	-	10
6-nitrochrysen	0,42	0,40	-	-	6,8
6-nitrobenzo[a]pyren	1,7	4,1	-	-	3,1

V České republice byly nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky monitorovány v průběhu let 1996-1998 v ovzduší Teplic (zatížená oblast) a Prachatic (referenční oblast) [26]. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny u těch nitroPAH, jejichž mateřské sloučeniny mají semivolatilní charakter: naftalen, anthracen, fluoranthen a pyren. V Prachaticích byly většinou nacházeny nižší hodnoty než v Teplicích. Mediány získané z nálezů v letních a zimních měsících jsou uvedeny v **Tabulce IV**.

Tabulka IV: nitroPAH v ovzduší Teplic a Prachatic (mediány koncentrací v ng/m³) [26]

	počet vzorků	1-nNap	2-nNap	9-nAnt	1-nPyr	2+3nFlt*
TEPLICE						
zima 96	3	0,42	0,35	0,28	n.d.	-
léto 96	8	0,11	0,12	0,09	n.d.	-
zima 96-97	7	0,24	0,29	0,26	0,05	0,50
léto 97	6	0,13	0,11	0,03	n.d.	n.d.
zima 97-98	8	0,16	0,17	0,07	0,05	0,10
léto 98	7	0,09	0,09	0,02	n.d.	n.d.
zima 98	4	0,18	0,16	0,07	n.d.	0,11
PRACHATICE						
zima 96	3	0,12	0,18	0,10	n.d.	-
léto 96	8	0,06	0,06	n.d.	n.d.	-
zima 96-97	7	0,10	0,10	0,04	n.d.	0,04
léto 97	8	0,04	0,03	n.d.	n.d.	n.d.
zima 97-98	7	0,08	0,05	n.d.	n.d.	0,01
léto 98	7	0,03	0,03	n.d.	n.d.	n.d.
zima 98	5	0,03	0,03	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. analyty byly pod mezí stanovitelnosti t. j. pod koncentrací 0,01-0,02 ng/m³

- nebylo stanoveno

* použitá kolona a shodná MS spektra nedovolují rozlišit tyto dva izomery, kvantitativní stanovení bylo provedeno za použití standardu 3-nFlt

Z výsledků je patrný sezónní vliv, s vyššími koncentracemi sledovaných analytů v zimním období v obou lokalitách. Na základě získaných údajů je možné anticipovat trend v poklesu

koncentrací jednotlivých nitroPAH v zimním, ale i letním období. V Teplicích byly nejvyšší průměrné hodnoty 1- a 2-nitronaftalenu a 9-nitroanthracenu v zimě 1996, ale v zimním období 1998-9 již byly naměřeny koncentrace 2-3 krát menší.

2.3 Nálezy nitroderivátů PAH v rostlinách, plodinách a v potravinách

NitroPAH se v potravinách vyskytují většinou ve velmi nízkých koncentracích, a proto se předpokládá, že dietární expozice člověka nitroPAH je velmi malá [29]. Přesto však může přítomnost nitroPAH v potravinách představovat určité riziko, a to z důvodu jejich vyššího toxického potenciálu ve srovnání s mateřskými uhlovodíky.

Hlavním zdrojem kontaminace zemědělských produktů a dalších potravinářských surovin je atmosférická depozice PAH, v menší míře se pak uplatňuje sorpce z půdy, případně z vody. Významně mohou ke kontaminaci potravin přispět i některé technologické a kulinární procesy při zpracování (uzení, pečení, pražení, sušení, grilování).

Vyšetření hladin nitroPAH v rakouských potravinách [6] zjistilo především detekovatelná množství 1- a 2-nitronaphthalenu a 2-nitrofluorenu. Nejvyšší koncentrace byly nalezeny v koření a tradičně uzených potravinách, avšak nitroPAH byly detekovány také v zelenině a čaji maté.

Ziegler [30] se zabýval sledováním hladin nitroPAH v ovoci a zelenině a jejich osudem během kulinárního zpracování. Obsahy nitroPAH ve všech testovaných vzorcích byly pod detekčním limitem metody používané autory (5 ng/g). Na základě předpokladu, že zelenina rostoucí v blízkosti silnic by mohla být s největší pravděpodobností kontaminována kromě PAH i jejich nitroderiváty, byla testována kontaminace brokolice nitroPAH v průběhu jednoho týdne, kdy byly jedlé části této zeleniny umístěny na 6 hodin denně do těsné blízkosti frekventované silnice a byly tudíž exponovány výfukovými plyny. U žádného vzorku však nepřekročily obsahy sledovaných nitroPAH hodnotu detekčního limitu.

Vzhledem k extrémně nízkým nálezům nitroPAH v zelenině bylo třeba ji pro další studie vlivu zpracování uměle kontaminovat. Vařením květáku a brokolice obohacených přísadkou 1-nitronaftalenu, 2-nitronaftalenu a 2-nitrofluorenu byla zjišťována distribuce nitroPAH mezi výluh a pevný podíl. Ve výluhu po vaření květáku bylo zjištěno pouze kolem 3% každého ze sledovaných nitroPAH, zatímco 2-nitrofluoranthren byl téměř kvantitativně detekován v jedlém podílu (**Tabulka V**). Více než 40 %ní ztráty obou nitronaftalenů jsou způsobeny jejich vytěkáním během varu. Zcela srovnatelné výsledky byly získány také u brokolice.

Roztok nitroPAH byl dále aplikován na slupku jablek a po 18ti hodinovém působení byl stanoven jejich obsah ve slupkách a ve vnitřní části. Z výsledků je patrné, že téměř celý obsah sledovaných látek zůstal ve slupce (**Tabulka VI**). Loupaní ovoce a zeleniny tedy představuje pro konzumenta velmi účinný způsob odstranění těchto polutantů, ale za cenu ztráty určitého podílu nutričně významných látek.

V dalším experimentu byla zjišťována možnost dekontaminace jablek a kedlubnů omytím horkou vodou. Tento proces neměl žádný vliv na pokles koncentrace nitroPAH ve slupkách (**Tabulka VI**), což je způsobeno tím, že po aplikaci nitroPAH na slupku ve formě roztoku dochází k průniku těchto látek do slupky. V prostředí jsou však tyto sloučeniny převážně adsorbovány na částicích, které se usazují na povrchu rostlin a tudíž je opodstatněná domněnka, že je lze omytím snadno odstranit.

Tabulka V: *Distribuce nitroPAH do výluhu a pevného podílu získaná vařením květáku a brokolice (% zpětné výtěžnosti, směrodatná odchylka) [30]*

	1-nitronaftalen		2-nitronaftalen		2-nitrofluoren	
	pevný podíl	výluh	pevný podíl	výluh	pevný podíl	výluh
květák	56,7 (12,4)	2,9 (0,5)	56,1 (15,3)	3,2 (0,7)	96,3 (6,4)	2,5 (0,9)
brokolice	42,2 (5,1)	3,6 (2,1)	38,8 (5,2)	4,4 (3,0)	77,0 (18,9)	3,6 (1,0)

Tabulka VI: *Obsah nitroPAH ve slupkách jablek a kedlubnů (% zpětné výtěžnosti) [30]*

	1-nitronaftalen		2-nitronaftalen		2-nitrofluoren	
	slupka	vnitřní část	slupka	vnitřní část	slupka	vnitřní část
jablka	89	4,2	83	4,1	106	n.d.
jablka omytá	89	--	82	--	101	--
kedlubny	71	n.d.	56	n.d.	101	n.d.

n.d. nedetekováno
-- nebylo analyzováno

V rámci studia výskytu nitro-derivátů PAH v potravinách a v dietě člověka, která byla prováděna VŠCHT Praha v r. 1999 – 2001 [28] byly zjišťovány koncentrace nitroPAH v nati petržele různého původu (ČR a Slovensko) v rozmezí 10^{-1} až 10^{-2} ng/g čerstvé hmotnosti (převážně 1- a 2- nitronaftalen, 9-nitroanthracen a 3-nitrofluoranthren). Koncentrace mateřských PAH byly přitom o 2-3 řády vyšší – viz též [kap. 5](#). Celkové koncentrace 0,3 – 2 ng/g nitroPAH byly nalezeny v klobásách uzených klasickou technologií. Nepodařilo se však prokázat vliv množství použité nakládací směsi obsahující dusitan sodný ani vliv způsobu uzení.

Na základě rozsáhlého vyšetření celodenní diety 8 dobrovolníků metodou DDS (Duplicate Diet Study) realizované jak v letním tak i zimním období roku 2001/2002 byl odhadnut průměrný denní příjem na osobu 0,04 μ g 1- a 2-nitronaftalenu a 0,03 μ g ostatních nitroderivátů PAH [28]. Rozdíly mezi muži a ženami nebo mezi sezonami nebyly významné, maximální naměřené hodnoty byly až o řád vyšší. Pro srovnání lze uvést průměrné hodnoty sumy PAH, které se pohybovaly mezi 6 – 10 μ g na osobu a den. Koncentrace nitroPAH v potravinách se pohybovaly vždy pod hranicí 3 ng/g, tuto hranici by mohly výjimečně překročit pouze některé vzorky koření, uzené a grilované pokrmy nebo pražené oříšky.

3 Metody hodnocení zátěže agrárních ekosystémů PAH a jejich deriváty

Do agrárních ekosystémů vstupují PAH a jejich nitroderiváty především prostřednictvím atmosférických imisí a dále např. z kalů z čistíren odpadních vod (ČOV) aplikovaných do půdy. V některých případech může přímý vstup PAH do agrárního ekosystému představovat silně znečištěná závlahová voda, popř. voda ze záplav.

Pro samotné nitroderiváty PAH se však uvažují téměř výhradně atmosférické depozice, rozhodující je zde pevná frakce (prachové částice) na kterou jsou tyto látky za běžných teplot z větší části sorbovány ([viz 2.2.](#)). Při posuzování zátěže agrárních ekosystémů nitroderiváty PAH se tedy primárně hodnotí znečištění ovzduší a následně pak kontaminace rostlin. Rostliny tak současně mohou být využity i jako bioindikátory znečištění ovzduší kterému jsou exponovány. Největší podíl na ploše rostlinného povrchu zaujímají listy a jehličí, zatímco povrch kmenů, stonků a větví zachytí jen malou část depozice.

3.1 Vzorkování ovzduší

Vzhledem k nízkým koncentracím PAH a zejména jejich derivátů v prostředí představuje odběr vzorků komplexní problém, kterému je třeba věnovat zvýšenou pozornost. Postup při vzorkování závisí na charakteru matrice a vlastnostech sledovaných sloučenin za konkrétních podmínek, a proto jej nelze zobecnit. Při vlastním vzorkování je ve většině případů vhodné zvolit techniku umožňující záchyt analytu přítomného jak v plynné, tak v pevné fázi. Jen tak lze stanovit celkové koncentrace sledovaných látek i jejich distribuci mezi fázemi.

Při vzorkování ovzduší se využívají speciální techniky, kdy je vzorek odebírán nejčastěji pomocí aktivních vzorkovacích zařízení. K záchytu pevné atmosférické fáze nejčastěji slouží filtry z křemenných [26, 31, 33, 34] nebo skelných vláken, ale i celulóзовých vláken, dále různé směsné vláknité filtry nebo filtry membránové – z esterů celulózy, teflonu, nylonu apod. [32, 34-39]. Pro zachycení plynné fáze se pak používají různé typy sorbentů – polyuretanová pěna (PUF) [26, 31, 32], pryskyřice Amberlit XAD nebo Tenax.

Množství odebraného vzduchu závisí na koncentraci prachových částic a na očekávaném množství nitroPAH a může tedy většinou dosahovat až tisíce krychlových metrů. Pro tak velké objemy nejsou běžná zařízení konstruována. Nejrozšířenější typ velkoobjemového vzorkovacího zařízení je na **Obr. 3**.

Pokud filtry nejsou ihned dále zpracovávány, je vhodné je uchovávat v uzavřených nádobách v chladničce (nebo lépe v mrazničce), aby se zabránilo ztrátám v důsledku odpařování či rozkladných reakcí [35]. Na filtru nesmí docházet k druhotným transformačním reakcemi s reaktivními (anorganickými) atmosférickými plyny.

Z pevných částic přítomných v atmosféře je třeba věnovat pozornost především zachytávání jemné respirabilní frakce $PM_{2,5}$ ($d < 2,5 \mu m$). Zdrojem jemné frakce mohou být především všechny spalovací procesy, chemická výroba ale i přírodní požáry. Tyto částice jsou schopny pronikat až do plicních sklípků (alveolární frakce) a setrvávají v atmosféře až několik týdnů, což umožňuje dálkový transport na vzdálenost stovek až tisíců kilometrů. Velký měrný povrch částic a vysoký obsah organického uhlíku v této frakci jsou příčinami vyššího obsahu sorbovaných PAH a jejich derivátů a vytvářejí vhodné podmínky pro průběh atmosférických reakcí.



Obr. 3: Velkoobjemové vzorkovací zařízení pro odběry ovzduší Andersen Instruments (až 1500 m³ / 24 h)

3.2 Rostlinné bioindikátory

Jako bioindikátor PAH a lipofilních organických polutantů kontaminujících okolní atmosféru může být použita vegetace nebo její části. Nejčastěji využívanými bioindikátory jsou v případě PAH a jejich derivátů vyšší rostliny. Listy rostlin, jehličí i další rostlinná pletiva pak reprezentují pasivní samplery využívané při dlouhodobém monitorování hladin atmosférické kontaminace. Nálezy PAH v rostlinách výrazně ovlivňuje také morfologie rostlin (velikost povrchu nadzemní části), délka vegetačního období a okolní podmínky, především teplota vzduchu, sluneční svit a srážky.

Nevýhodou rostlinných bioindikátorů jako pasivních samplerů je jednak jejich omezená dostupnost na místech, která mají být sledována a jednak značná biologická variabilita vlastností

významných pro parametry vzorkování (např. charakter a plocha povrchu, tloušťka a složení voskové vrstvy apod.). Některé části rostlin, jako jsou např. listy, plody apod. jsou dostupné pouze v určitém vegetačním období, jiné zase mění svůj charakter – např. jehličí různého stáří.

Kůru stromu proto využil jako celoroční pasivní sampler např. Douce [40] při sledování nitroPAH. Vzorky pocházely ze dvou lokalit města Sheffieldu (centrální autobusové nádraží a park na předměstí) a byly odebrány v různých časových obdobích ve výšce 1-2 m nad zemí. Podle očekávání byly vyšší hladiny nitroPAH zjištěny u vzorku z autobusového nádraží. U obou vzorků odebraných v lednu byly stanoveny vyšší koncentrace oproti vzorkům odebraným v červnu, což může být způsobeno kombinací následujících důvodů:

- v zimě je produkováno více emisí z dopravy, lokálních topenišť, apod.
- v zimě jsou opadavé stromy bez listů a tudíž jsou veškeré polutanty zachycovány na kůře
- v zimním období dochází vlivem nízkých teplot ke kondenzaci nitroPAH
- fotodegradace nitroPAH přítomných v plynné fázi je pravděpodobněji v letních měsících díky vyšší intenzitě UV záření a přítomnosti radikálů, které ji způsobují

Pro sledování zátěže atmosféry PAH a nitroPAH se jako vhodný bioindikátor s celoroční použitelností osvědčilo jehličí smrku ztepilého (*Picea abies*). Povrchový vosk jehličí velmi dobře zachytává zejména polyaromáty přítomné v parní fázi, pouze částečně jsou sorbovány i nepolární polutanty sorbované na tuhé atmosférické částice [28]. Lze také využít různé druhy mechorostů, jako jsou v našich podmínkách např. *Pleurozium schreberi*, *Hylocomium splendens* nebo *Hypnum cupressiforme*. V tomto případě však – vzhledem k absenci významnějšího množství vosku v mechu - odrážejí výsledky zejména kontaminaci prachu, kterému byly mechorosty exponovány. Omezená dostupnost, obtíže při druhové identifikaci i různorodost vegetačních forem použitelnost mechorostů značně omezují.

3.3 Standardizované pasivní vzorkovací techniky

Při pasivním vzorkování vzduch samovolně proudí kolem pasivně vystaveného filtru, membrány či jiného média (sorbentu) do kterého se sledovaný polutant zachycuje. Po skončení odběru se toto médium analyzuje a přepočtem se zjistí koncentrace škodliviny v ovzduší. Řídící a separační mechanismus pasivních vzorkovačů je založen na rozdílu mezi koncentracemi škodlivin v okolním prostředí a v sorpčním médiu. Délka vzorkování se řídí podle typu média a doby, která je nutná pro zachycení dostatečného množství škodliviny do vzorkovacího média, v některých

případech se vzorkuje až do ustavení rovnovážného stavu mezi koncentrací škodliviny v ovzduší a jejím zachyceným množstvím (resp. do doby nasycení kapacity zachycovacího média).

Základní vlastností pasivních vzorkovačů je velmi nízká citlivost na náhodné extrémní změny v aktuální koncentraci polutantů. Poskytují tak informace o dlouhodobé úrovni kontaminace sledovaného environmentálního média (např. ovzduší). Naopak, pro zkoumání rychlých změn znečištění závislých na aktuálním stavu zdroje nebo meteorologické situaci jsou pasivní vzorkovače nevhodné.

SPMD - selektivní vzorkovač organických polutantů - představuje standardizovaný pasivní sampler používaný pro monitoring životního prostředí. Jedná se o exaktně definovanou matici s kontrolovatelnou čistotou, kterou lze exponovat na libovolném vzorkovacím místě po přesně stanovenou dobu.

Komerčně dostupné standardní membrány jsou tvořeny trubicí polyethylenu o nízké hustotě (LDPE) vyrobené bez aditiv o rozměrech 2,54 cm x 91,4 cm, tloušťkou stěn 75 – 90 μm . Trubice je naplněna 1 ml trioleinu o minimální čistotě 95 %. Principem SPMD je sekvestrace (zachytávání) analytů. Organické kontaminanty difundují semipermeabilní membránou z okolního prostředí do vrstvy trioleinu uvnitř membrány a koncentrují se v něm – viz **Obr. 4**. Technické provedení vzorkovače je patrné z **Obr. 5**. Zachycené analyty se po expozici SPMD z uzavřené polyethylenové trubice izolují dialýzou v prostředí nepolárního rozpouštědla (*n*-hexan nebo pentan) a získané extrakty se zpracují běžnými analytickými metodami.

SPMD jsou použitelná pro látky, které se vyskytují pouze v neionizované formě, s maximálními rozměry molekuly cca 10 Å a s vysokou hodnotou K_{ow} ($\log K_{ow} > 3$). Vzorkováním pomocí SPMD lze stanovit PAH ve vodě, vzduchu, půdě a sedimentech.

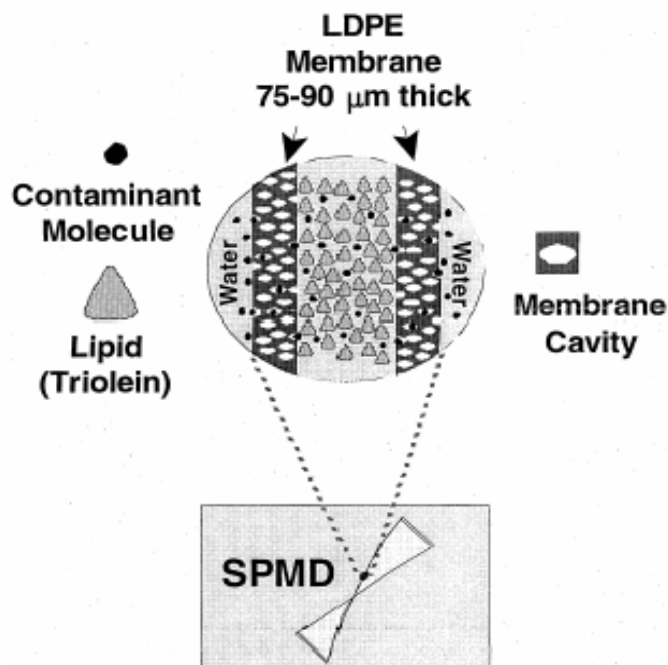
Vzorkování pomocí SPMD představuje určitou analogii se záchytem PAH bioindikátorovými organismy. Ve vodních ekosystémech triolein velmi dobře reprezentuje lipidy převládající ve většině vodních organismů. Mechanismus kontaminace difusí přes biomembrány je analogický s SPMD. V ovzduší simuluje film polymerního trioleinu přestup polutantů z parní fáze do povrchového vosku rostlin.

Výhody a nevýhody techniky SPMD oproti aktivnímu vzorkování jsou uvedeny v **Tabulce VII**. Z tohoto porovnání je nicméně patrné, že obě techniky jsou nezastupitelné a poskytují navzájem komplemetární informace. Z hlediska srovnávacího hodnocení celkové zátěže agrárních

ekosystémů atmosférickými imisemi PAH a nitroPAH je s ohledem na zemědělskou produkci využití SPMD velmi zajímavou a perspektivní volbou.

Tabulka VII: SPMD v porovnání s aktivním vzorkováním ovzduším

Výhody	Nevýhody
možnost integrálního vzorkování 1 – 6 týdnů	méně než cca 1 týden zpravidla nestačí pro dosažení dostatečné koncentrace sledovaných látek
selektivní vstup a zachycení nízkomolekulární lipofilní frakce (lze odhadnout z K_{OW})	praktická (téměř) nemožnost exaktní kalibrace
selektivní vstup a zachycení POPs jen z parní fáze	poměry jednotlivých POPs neodpovídají koncentračním poměrům v ovzduší
snadná izolace látek z membrány spojená s přečištěním analytického vzorku	možnost fotodegradace labilních komponent
nepotřebuje přívod energie, lze ponechat kdekoli týdný bez dozoru	značná závislost rychlosti vzorkování na teplotě
čistší extrakty	vysoká cena membrán



Obr. 4: Schematické znázornění difuze a sekvestrace kontaminantů SPMD



Obr. 5: SPMD zařízení pro pasivní vzorkování ovzduší

4 Monitoring PAH a jejich nitroderivátů v ovzduší [101]

V rámci monitoringu stavu životního prostředí [101] byly jako lokality s nejvyšší úrovní zátěže polycyklickými aromatickými uhlovodíky v roce 2000 vyhodnoceny Valašské Meziříčí, Olomouc, Průhonice a Ostrava - viz **Obr. 6**. Nižší koncentrace se nacházely v membránách z Teplic (!) a Srnojed (západně od Pardubic). V lokalitách Staňkov a Prachatice byla úroveň zátěže jen minimální.

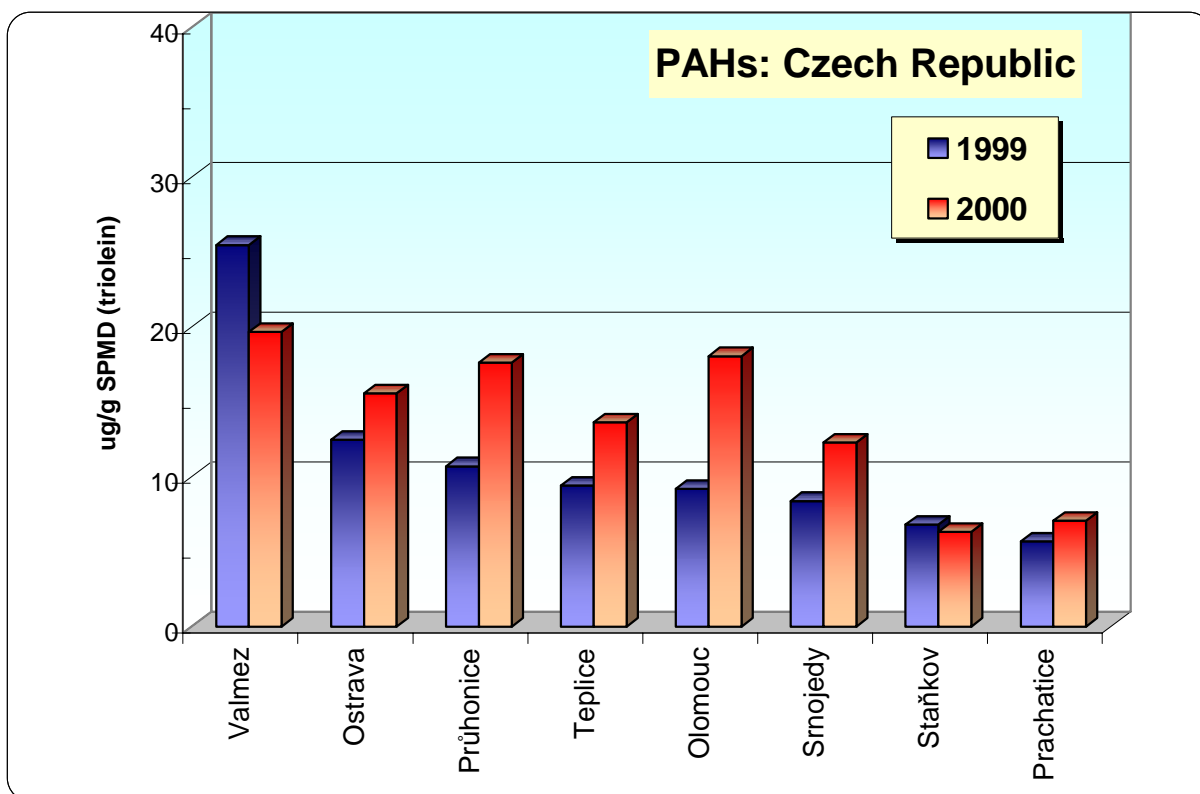
Celkově jsou hladiny PAH nacházené v SPMD zdánlivě překvapivě poněkud vyšší v červenci 2000 oproti říjnu 1999, a to navzdory vlivu topné sezóny v říjnu 1999. Vyšší koncentrace PAH v ovzduší potvrzují např. i nálezy PAH v jehličí smrku, které je v jiné části monitoringu používáno jako bioindikátor plošného znečištění. Jedinou výjimkou je oblast Valašské Meziříčí, kde v roce 2000 koncentrace PAH poklesly. Ve dvou nejkontaminovanějších lokalitách na Slovensku ("Velká Ida" - těžký průmysl, "Bratislava Patrónka" - doprava) byl v r. 2000 pozorován nárůst koncentrací PAH. Celkově jsou na Slovensku - kromě zmíněných dvou lokalit a průmyslové lokality "Medzibrodie" - hladiny PAH spíše poněkud nižší nežli v České Republice (viz **Obr. 7**).

Velmi podstatný vliv nejspíše hrají právě klimatické vlivy (zejména teplota, srážky, rychlost a směr větru, délka a intenzita slunečního svitu), které se v obou odběrních obdobích a i mezi lokalitami významně lišily. Z technických důvodů však není možné, aby všechny tyto faktory byly v daných lokalitách monitorovány ale zejména je nelze pro korigování nálezů exaktně použít. Jedinou reálnou cestou, které se nebude možné vyhnout ani při relativním porovnávání zátěže různých lokalit, je použití vhodných referenčních sloučenin (PRC) umožňujících eliminaci některých uvedených vlivů.

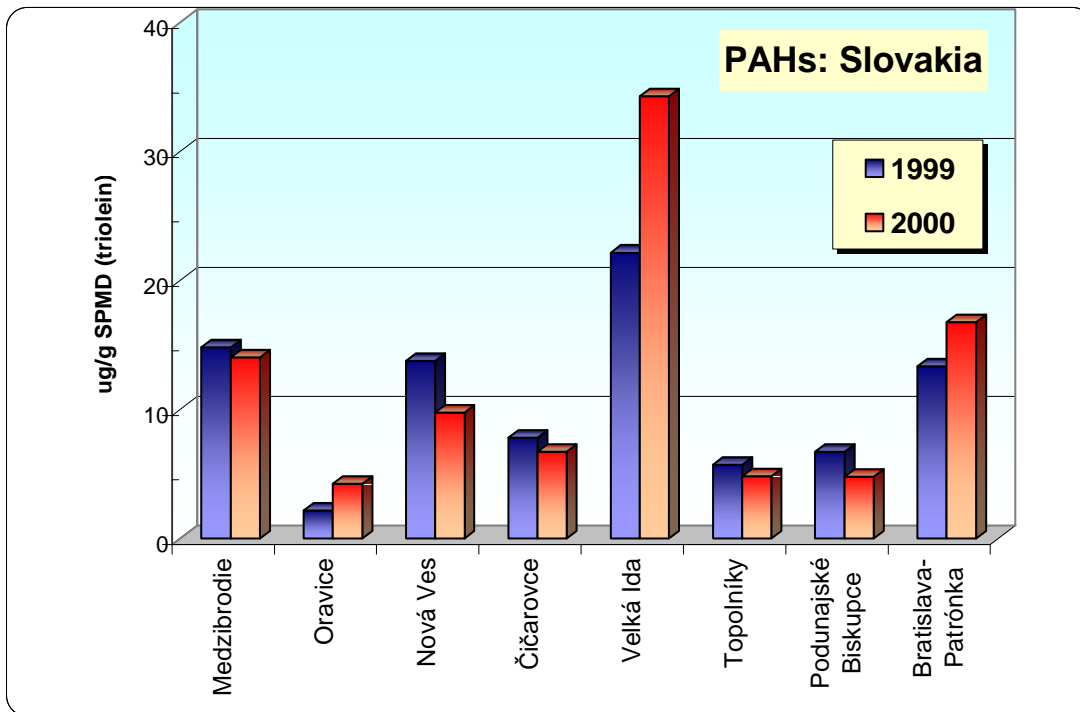
Vzhledem ke skutečnosti, že membrány sekvestrují pouze sloučeniny přítomné v plynné fázi, je nejzajímavějším faktorem právě teplota při vzorkování. Ta ovšem ve volném ovzduší - oproti vzorkování ve vodě - kolísá ve velmi širokém rozmezí. Při stejném celkovém znečištění ovzduší PAH zaznamenaném při aktivním vzorkování (plynná a pevná fáze) stoupá s rostoucí teplotou vzduchu podíl polutantů přítomných v plynné fázi a současně se zvyšuje i rychlost difúze PAH přes polyethylenovou membránu do trioleinu; oba tyto faktory nálezy PAH významně zvyšují.

Nálezy nitroPAH v SPMD jsou dokumentovány na **Obr. 8 a 9**. Za pozornost stojí měřítko osy koncentrací, které byly oproti PAH téměř o tři řády nižší.

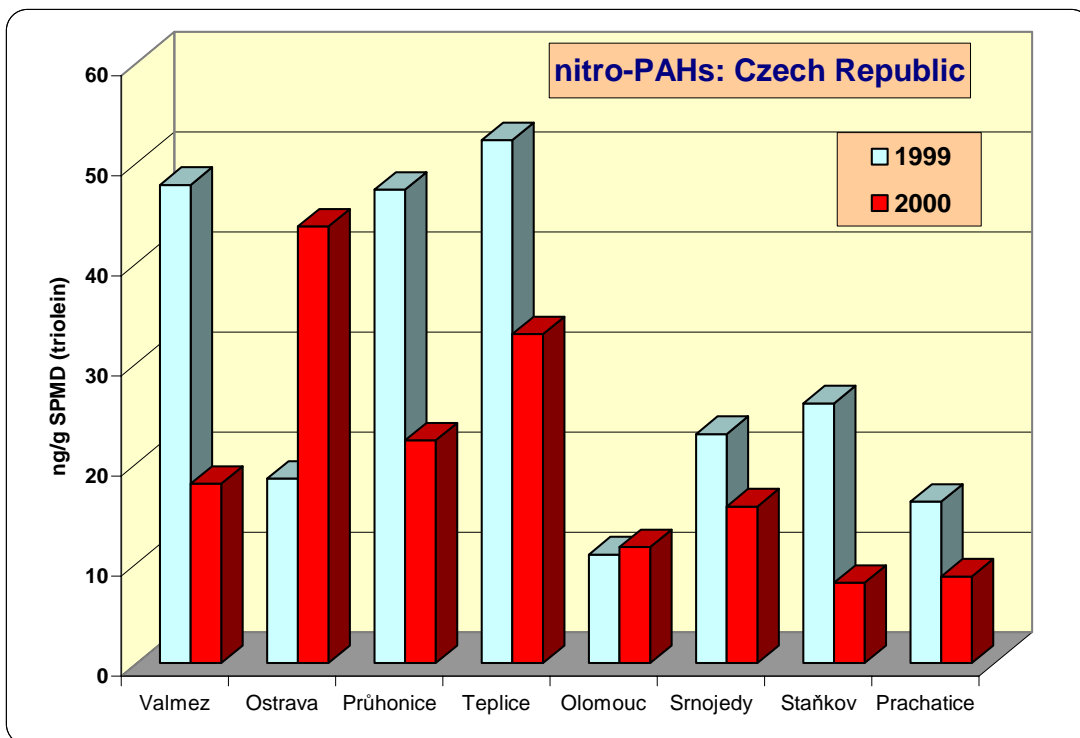
Z nitroPAH, uváděných v sumě, byly v SPMD zastoupeny v největší míře 1-nitronaftalen, 2-nitronaftalen, 9-nitroanthracen, 3-nitrofluoranthren a v některých případech také 2-nitrofluoren - viz **Obr. 10 a 11** a rovněž **Tabulky VIII a IX**.



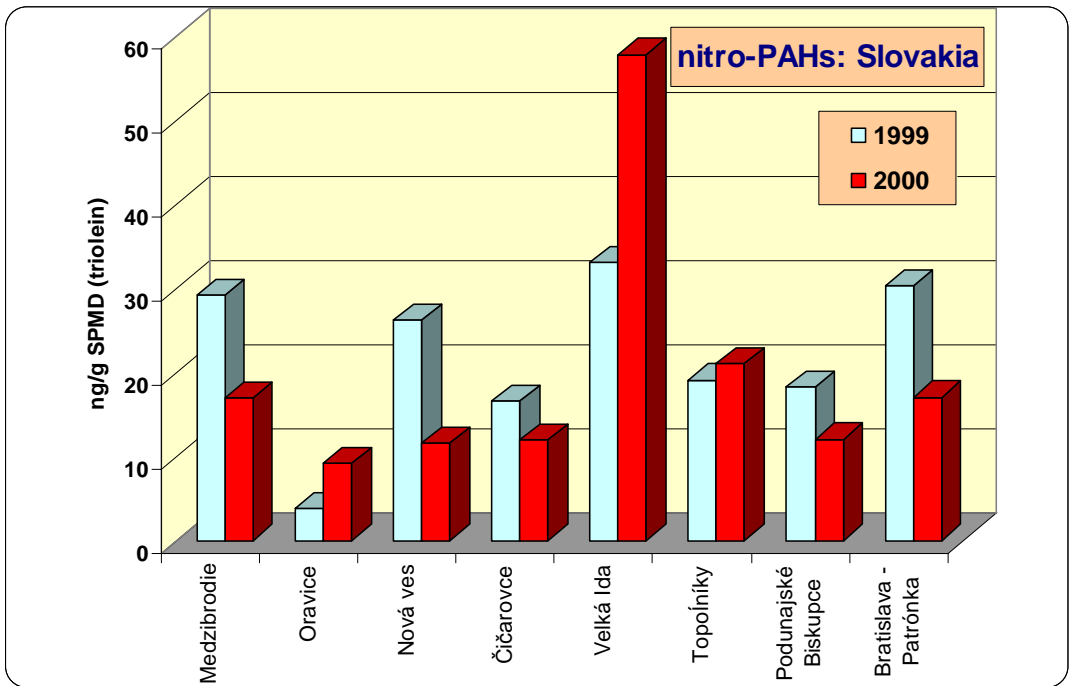
Obr. 6: PAH v SPMD exponovaných v různých lokalitách ČR (X/1999, VII/2000)



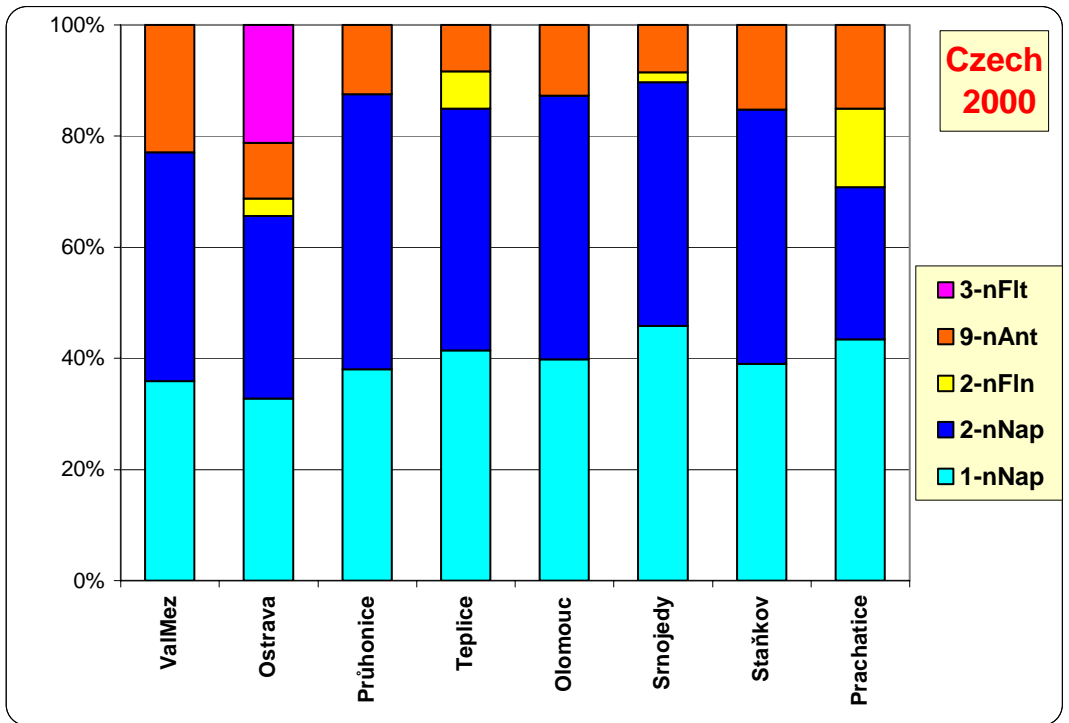
Obr. 7: PAH v SPMD exponovaných na Slovensku (X/1999, VII/2000)



Obr. 8: Hladiny sumy nitroPAH v SPMD membránách exponovaných v různých lokalitách v ČR (X/1999, VII/2000)



Obr. 9: Hladiny sumy nitroPAH v SPMD membránách exponovaných v rôznych lokalitách na Slovensku (X/1999, VII/2000)



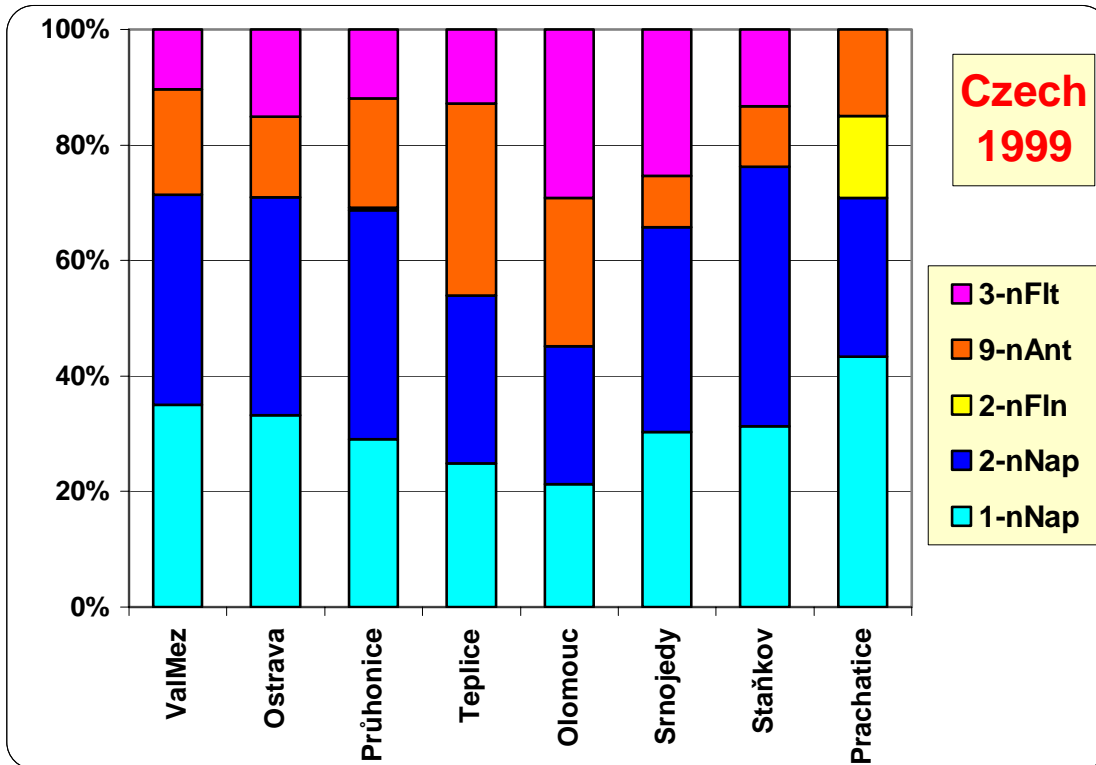
Obr. 10: Relativní zastoupení nitroPAH v SPMD membránách exponovaných v ČR (VII/2000)

Tabulka VIII: NitroPAH v SPMD membránách exponovaných v ČR (červenec 2000)

ng/g triolein	ValMez	Ostrava	Průhonice	Teplíce	Olomouc	Srnojedy	Staňkov	Prachatice
1-nNap	6,43	14,28	8,46	13,61	4,61	7,17	3,13	3,75
2-nNap	7,39	14,36	11,01	14,32	5,49	6,86	3,67	2,37
2-nFln	n.d.	1,34	n.d.	2,19	n.d.	0,27	n.d.	1,22
9-nAnt	4,10	4,37	2,77	2,75	1,48	1,33	1,22	1,30
3-nFlt	n.d.	9,28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1-nPyr	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
7-nBaA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6-nChr	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6-nBaP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Suma nitroPAH	17,9	43,6	22,2	32,9	11,6	15,6	8,0	8,6

Tabulka IX: NitroPAH v SPMD membránách exponovaných na Slovensku (červenec 2000)

ng/g triolein	Medzi-brodie	Oravice	Nová Ves	Čičarovce	Veľká Ida	Topoľní-ky	Podunajské Biskupice	Bratislava - Patrónka
1-nNap	4,16	1,74	3,16	2,39	18,34	4,13	4,37	4,33
2-nNap	5,03	2,62	4,55	4,37	21,30	6,05	6,18	6,63
2-nFln	4,41	3,02	1,31	2,19	9,51	6,11	n.d.	4,53
9-nAnt	3,35	1,81	2,57	3,07	8,79	4,82	1,54	1,61
3-nFlt	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1-nPyr	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
7-nBaA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6-nChr	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6-nBaP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Suma nitroPAH	16,9	9,2	11,6	12,0	57,9	21,1	12,1	17,1

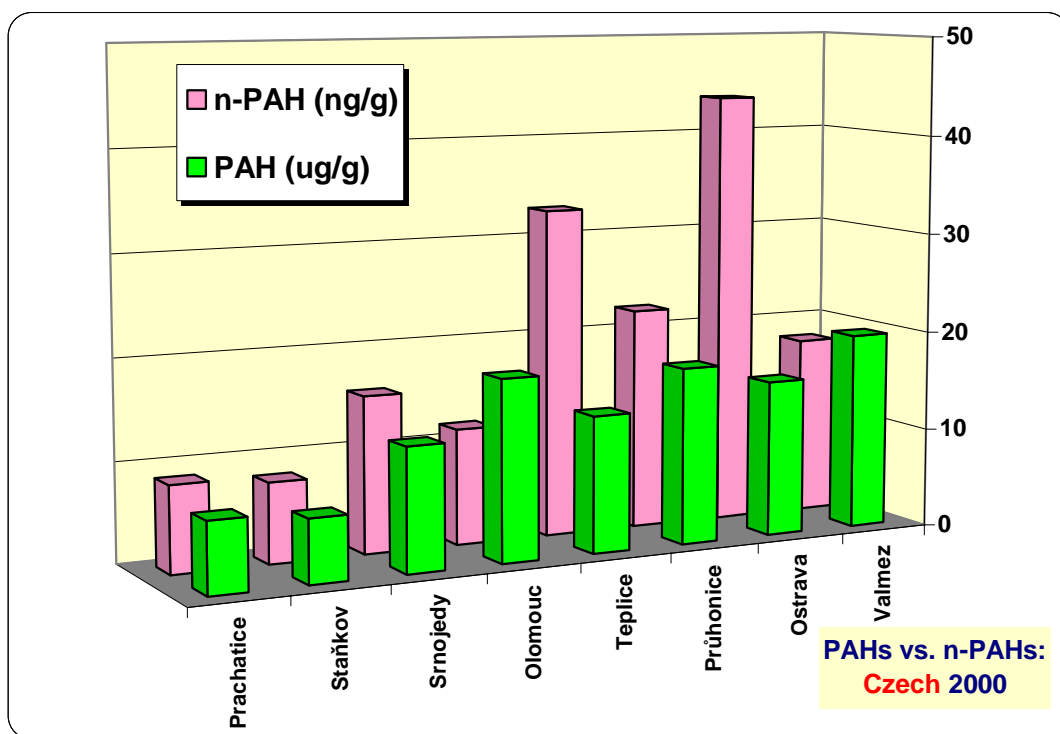


Obr. 11: Relativní zastoupení NitroPAH v SPMD membránách exponovaných v České republice (říjen 1999)

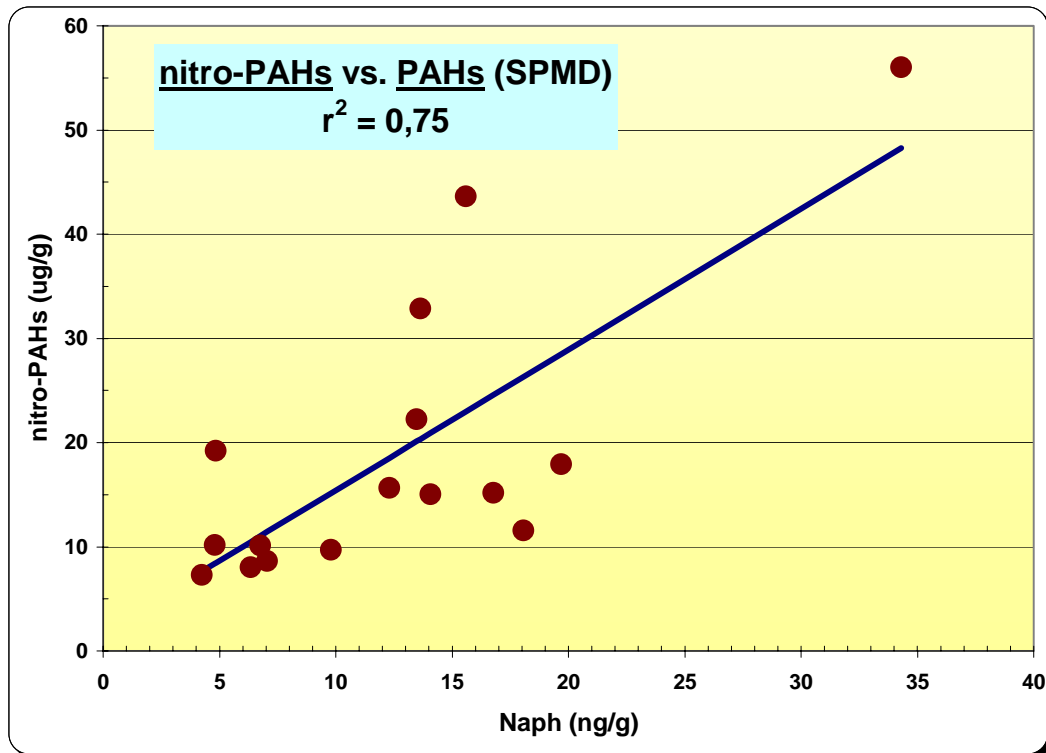
Zatímco relativní zastoupení jednotlivých PAH v SPMD se v obou letech vzorkování nijak podstatně nezměnilo (vezmeme-li do úvahy jisté rozdíly zaznamenané vždy i mezi lokalitami), pak v zastoupení nitro-derivátů v trioleinu jsou mezi podzimním a letním obdobím patrný značné rozdíly - viz porovnání **Obr. 10 a 11**. V r.2000 se významně zvýšil podíl nejtěžších 1- a 2-nitronaftalenů ze 45 až 75 % v podzimním období na 70 až 90 % v období letním. Až na jedinou výjimku také vymizel 3-nitrofluoranthen a snížil se i podíl labilního 9-nitroanthracenu.

Vztahy mezi mateřskými PAH a jejich nitro-deriváty naznačuje **Obr. 12**. Jestliže lokality s nejnižšími hladinami PAH vykazovaly rovněž nejnižší hladiny nitroPAH (Staňkov, Prachatice), pak nejvyšší koncentrace nitroPAH byly zjištěny ve dvou lokalitách (Ostrava, Průhonice), u kterých byly nálezy PAH v membránách jen průměrné.

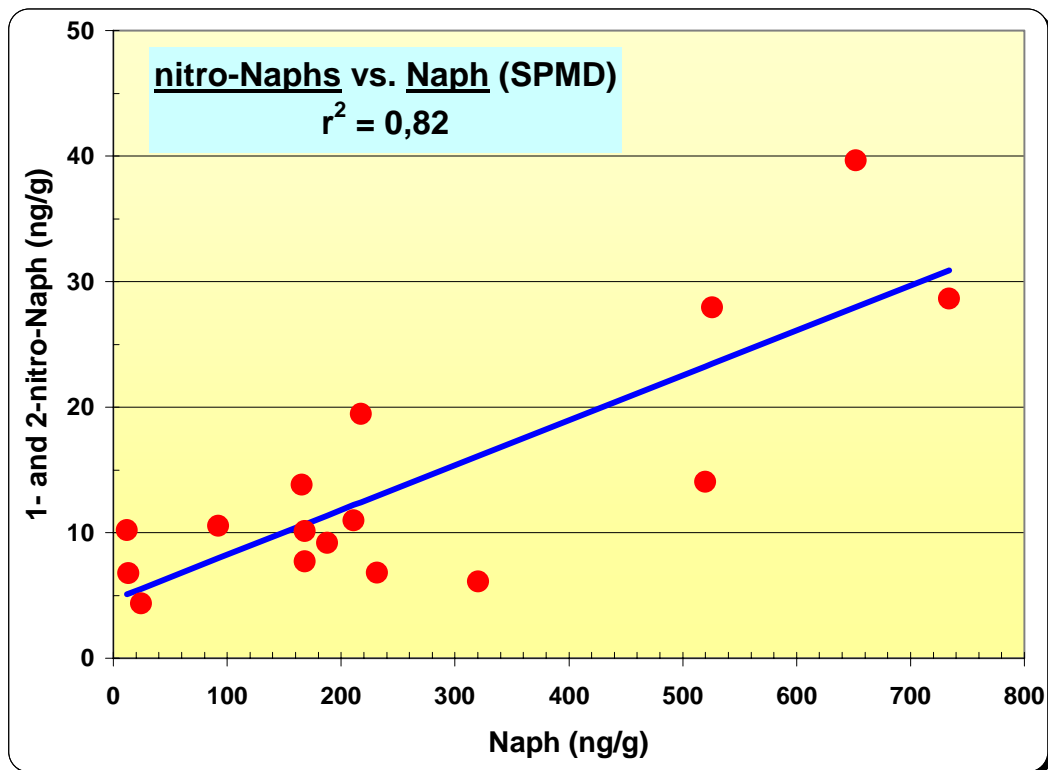
Zpracují-li se výsledky z České i Slovenské republiky (n=16), lze získat vztah naznačený na **Obr. 13**. Zjištěné korelace jsou poměrně slabé, neboť nitro-deriváty tvořící v sumě nitroPAH nejpodstatnější podíl (nitronaftaleny) nejsou dominantními komponentami sumy PAH. Proto byly spolu dále korelovány pouze dobře stanovitelné nitronaftaleny a jejich prekursor - naftalen: viz **Obr. 14**. Zde lze již korelaci označit za významnou ($\alpha=0,05$).



Obr. 12: Srovnání koncentrací sumy PAH a sumy NitroPAH v SPMD membránách exponovaných v České republice (červenec 2000)



Obr. 13: Korelace mezi sumami PAH a nitroPAH v SPMD (červenec 2000)



Obr. 14: Korelace mezi nálezy 1- and 2-naftalenu a naftalen v SPMD (červenec 2000)

NitroPAH vznikají především fotochemicky iniciovanými reakcemi a atmosférickými reakcemi s $\bullet\text{NO}_2$ a $\bullet\text{NO}_3$ radikály a poměr mezi mateřskými látkami a nitro-deriváty je tedy velmi významně ovlivňován nejen povahou zdroje znečištění, ale především okamžitými klimatickými vlivy. Za těchto okolností je ovšem korelace presentovaná na Obr. 10 velmi dobrá, zvážíme-li rovněž značné nejistoty při vzorkování a analýze ultrastopových koncentrací nitroPAH.

5 Vztahy mezi koncentracemi PAH a nitroPAH v ovzduší, SPMD a vegetaci

Přechod PAH a jejich derivátů z atmosféry do vegetace může být přibližně odhadován pomocí matematických modelů založených na laboratorních studiích. Základní veličinou charakterizující tento přestup je rozdělovací koeficient n-oktanol/vzduch (K_{OA}) [41,42], jehož velikost můžeme odhadnout ze vztahu: $K_{OA} = K_{OW}RT/H$, kde K_{OW} je rozdělovací koeficient n-oktanol/voda a H je Henryho konstanta. Pro správné vyjádření K_{OA} je nutné znát přesné hodnoty H v závislosti na teplotě [43]. Nejlepší shodu takto odhadnutých teoretických hodnot s reálnými nálezy lze očekávat pro těkavé PAH ($\log K_{OA} < 8$). Sloučeniny s hodnotami $\log K_{OA}$ v rozpětí 8 – 11 nedosahují v systému rostlina – vzduch rovnováhy, a proto lze předpokládat, že reálné nálezy PAH by byly ve vegetaci nižší než teoretický odhad. Pro PAH a nitroPAH s $\log K_{OA} > 11$ je převažujícím mechanismem přestupu do rostlin depozice částic [42, 44]. Tento proces není pak příliš závislý na teplotě a tyto sloučeniny mohou být vázány pevněji na částice než na samotnou vegetaci [45].

Müller a kol. [46]. vytvořili pro odhad biokoncentrace hydrofobních látek model založený na dělení těchto sloučenin mezi atmosférou a pěti složkami listů – voda, buněčné lipidy, strukturní polysacharidy, proteiny a kutikulární membrána. Model byl testován za použití výsledků čtyř laboratoří pro smrkové jehličí, listy azalky a travní porost a bylo dosaženo dobré shody teoretických biokoncentračních faktorů s experimentálně zjištěnými. Výhodou tohoto modelu je fakt, že postihuje širší spektrum faktorů, které mohou přestup PAH z atmosféry do rostlin ovlivnit, ale správná predikce biokoncentračního faktoru pak velmi závisí na přesném odhadu objemových frakcí jednotlivých složek listů.

Transferové studie a modely zaměřené speciálně na nitroderiváty PAH byly zatím prováděny jen ojediněle a obecně se předpokládá, že veškeré modely platné pro PAH lze aplikovat

také na jejich nitroderiváty, samozřejmě při zohlednění jejich fyzikálně-chemických vlastností a vyšší reaktivity.

Koncentrace PAH a nitroPAH v ovzduší, SPMD membránách a petrželi byly porovnávány např. v experimentu, kde bylo vedle sebe umístěno 5 ks velkoobjemových vzorkovacích zařízení, 5 ks SPMD a dále truhlíky s petrželí předem vypěstovanou ve skleníku s vyloučením imisní zátěže. Výsledky jsou shrnuty v **Tab. X**.

Koncentrace všech sledovaných látek v parní fázi volného ovzduší, tak jak byly zachyceny pomocí velkoobjemových samplerů (PUF), odpovídaly vcelku průměrné imisní zátěži - hodnoty pro nitroPAH jsou velmi dobře srovnatelné s letními hodnotami nalézány ve studii Leníčka a kol. zabývající se ovzduším Teplic a Prachatic [26].

Z obsahu látek sekvestrovaných v SPMD membránách lze potom pro každou z nich odhadnout tzv. intenzitu (rychlost) vzorkování membránou, která se vyjadřuje v m^3 vzduchu za den. Z **Tab. X** je zřejmé, že pro nejtěkavější PAH - od naftalenu po antracen se hodnoty pohybují v rozmezí 3 až $9 \text{ m}^3/\text{den}$ a pro fluoranthen až chrysen přibližně od 1 do $2 \text{ m}^3/\text{den}$. Vyšší PAH jsou již zachycovány jen minimálně. Významným výsledkem jsou však dostatečně vysoké intenzity vzorkování vypočtené pro nitro-deriváty PAH, které se pohybují okolo $3 \text{ m}^3/\text{den}$ pro nitronaftaleny; rovněž 9-nitroanthracen ($1,4 \text{ m}^3/\text{den}$) a 3-nitrofluoranthen ($1 \text{ m}^3/\text{den}$) lze vzorkovat pomocí SPMD ještě poměrně dobře.

Na základě nálezů PAH a nitroPAH ve vzorcích petržele (bioindikátor vegetace s velkým povrchem) byly dále vypočteny koncentrační poměry mezi SPMD a petrželí. Koncentrace PAH v ng/g trioleinu (SPMD) jsou oproti koncentracím přibližně v petrželi dvou až desetinásobné, pro nitroPAH ale tento rozdíl činí 1 až 1,5 řádu. Tento fakt opět potvrzuje vhodnost použití SPMD pro vzorkování nitroPAH z ovzduší, jakkoli je nutno eliminovat možnosti fotodegradaci těchto látek v průběhu delší doby vzorkování.

Tab. X: Porovnání koncentrací PAH a nitroPAH v ovzduší, SPMD a petrželi [28]

<i>PAH</i>	HiVol sampler		SPMD	SPMD	SPMD	petržel	Poměr SPMD/petržel	$f_{\text{air/parsley}}$
	průměr ng/m ³	RSD (%)	průměr ng/g	RSD (%)	rychlost m ³ .den ⁻¹	průměr ng/g		
Naph	2,5	5,9	186,4	15	3,6	34,1	5,5	0,07
Ace	0,6	15,4	50,0	12	4,3	7,5	6,7	0,07
Fln	2,2	8,0	412,6	3	8,9	28,3	14,6	0,08
Phe	16,9	6,9	1 083,8	12	3,1	118,7	9,1	0,14
Ant	2,1	8,3	119,7	10	2,8	12,1	9,9	0,17
Flt	7,0	7,0	282,0	15	1,9	48,4	5,8	0,14
Pyr	6,5	4,7	251,1	14	1,8	36,7	6,8	0,18
BaA	0,8	6,2	34,2	14	2,0	7,9	4,3	0,11
Chr	1,6	7,4	27,1	17	0,8	11,3	2,4	0,14
BbF	1,9	4,8	3,3	10	0,1	2,2	1,5	0,86
BkF	0,6	5,9	1,9	14	0,2	1,2	1,6	0,48
BaP	0,9	3,9	2,7	18	0,1	1,4	1,9	0,63
DBahA	0,3	11,2	0,2	0	0,0	0,4	0,5	0,85
BghiP	1,3	5,0	4,2	11	0,2	1,3	3,1	0,95
IcdP	1,1	6,6	5,5	12	0,2	1,1	5,0	1,03
SUMA	46,2	-	2 465	-	2,5	313	-	-

<i>nPAH</i>	HiVol sampler		SPMD	SPMD	SPMD	petržel	Poměr SPMD/petržel	$f_{\text{air/parsley}}$
	průměr pg/m ³	RSD (%)	průměr ng/g	RSD (%)	rychlost m ³ .den ⁻¹	průměr ng/g		
1-nNap	82,3	21,1	4,7	16	2,7	0,11	44,2	0,78
2-nNap	93,7	18,2	6,2	16	3,2	0,10	62,0	0,93
2-nFln	10,7	17,3	< 0,1	-		< 0,01	-	-
9-nAnt	43,7	10,6	1,3	16	1,4	0,09	14,1	0,47
3-nFlt	72,7	14,7	1,6	26	1,0	0,24	6,4	0,30
1-nPyr	10,1	27,9	0,1	77	0,6	0,01	11,5	0,88
7-nBaA	9,6	46,3	0,1	7	0,5	0,01	13,5	1,30
6-nChr	6,8	31,9	< 0,1	-	-	< 0,01	-	-
6-nBaP	9,1	20,6	< 0,1	-	-	< 0,01	-	-

6 Toxické působení nitroderivátů PAH na živé organismy

Toxikologickému hodnocení substituentů PAH a jejich derivátů byla donedávna věnována mnohem menší pozornost ve srovnání s hodnocením jejich mateřských sloučenin. Přes úsilí posledních let zůstávají nitroPAH i nadále sloučeninami jejichž osud v životním prostředí není dosud plně objasněn a rovněž jejich vliv na živé organismy je zatím předmětem mnoha studií.

NitroPAH vykazují vyšší toxicitu než jejich mateřské sloučeniny. Předpokládá se, že jsou zodpovědné až za 90 % celkové mutagenity výfukových plynů, přičemž 1-nitropyren se na této mutagenitě podílí až z 20 %. Inhalační toxicita nitroPAH přitom souvisí nejen se samotnou přítomností semivolatilních nitroPAH v plynné fázi ovzduší, ale zejména s jejich sorpcí na prachové částice s průměrem menším než 1 μm , které jsou lehce respirabilní.

Orientace nitroskupiny je důležitým rysem, který výrazně ovlivňuje metabolismus, mutagenitu, tvorbu DNA aduktů a karcinogenitu těchto sloučenin. Mutagenita a karcinogenita nitroPAH se také značně liší v rámci geometrických isomerů. Například 1-, 2- a 3-nitro-benzpyren vykazují silnou mutagenitu, 6-nitro-benzpyren jen velmi slabou [5].

Tento vliv polohy nitroskupiny na mutagenitu je vysvětlován dvěma způsoby. Prvním vysvětlením je prostorová orientace nitroskupiny. Koplanární orientace zřejmě umožňuje redukci nitroPAH na nitroso- nebo hydroxylaminoderiváty, které jsou příčinou zvýšené mutagenity. Naproti tomu kolmá orientace způsobuje stérické zakrytí nitroskupiny, které redukci inhibuje, a proto mají tyto isomery mutagenní účinky jen slabé. Druhé vysvětlení je založeno na míře interakce nitroskupiny s π -systémem aromatických jader. Je-li interakce silná, vykazují isomery silnou mutagenitu a naopak [47].

Genotoxicita nitroPAH obecně závisí jak na struktuře mateřského uhlovodíku, tak i na počtu a poloze přítomných nitroskupin - viz **Tabulka XI**.

Tabulka XI: Genotoxické vlastnosti vybraných nitroPAH [48]

Sloučenina	Mutagenita	Karcinogenita
1-nitropyren	++	-/+
2-nitropyren	++	-/+
4-nitropyren	++	+
1,3-dinitropyren	+++	+
1,6-dinitropyren	+++	+
1,8-dinitropyren	+++	+
1-nitronaftalen	-/+	-
2-nitronaftalen	-/+	+
9-nitroantracen	-/+	?
2-nitrofluoren	+	+
3-nitrofluoranthén	+++	+
6-nitrobenzo[a]pyren	++	-/+
7-nitrobenzo[a]antracen	-/+	-/+
6-nitrochrysen	+	+++

Vysvětlivky: - inaktivní, -/+ velmi slabá, + slabá, ++střední, +++ silná, ? údaje nezjištěny

Nitroderiváty PAH jsou metabolizovány odlišným mechanismem než samotné PAH. Do organismu vstupují zpravidla dýchacími či trávicími cestami, mohou však být snadno a rychle absorbovány i kůží. Podle druhu expoziční cesty se také odlišuje metabolická cesta těchto látek.

Po vstupu do organismu inhalací jsou nitroPAH metabolizovány v plicích za tvorby potenciálně mutagenních hydroxylovaných nitroPAH. Tyto sloučeniny přecházejí společně s nemetabolizovanými nitroPAH do krevního oběhu, kterým se dostávají do jater. V játrech jsou zbylé nemetabolizované nitroPAH metabolizovány na hydroxy-nitroPAH a konjugovány s kyselinou glukuronovou. Glukuronové konjugáty jsou pak vylučovány, ale dostanou-li se tyto konjugáty do střev, mohou být střevní β -glukuronidázou rozštěpeny opět na volné hydroxy-nitroPAH, které představují potenciální karcinogeny ve střevech.

Po vstupu nitroPAH trávicí soustavou je většina těchto kontaminantů metabolizována ve střevech a vyloučena do 48h. Pouze velmi malá část dávky (asi 1,5 %) je metabolizována v játrech a poté vyloučena močí [16].

Hlavní metabolickou cestou nitroPAH ve střevech je redukce enzymy střevní mikroflóry na příslušné amino-PAH. Enzymy střevní mikroflóry přitom vykazují značnou substrátovou specifitu [49]. Amino-PAH jsou dále metabolizovány v játrech acetylací a následnou hydroxylací. Hydroxylované acetyl-amino-PAH jsou vylučovány samostatně nebo v konjugované formě.

Druhou alternativní formou metabolismu nitroPAH trávicí soustavou je vznik hydroxylovaných nitroPAH. Ty jsou však na rozdíl od hydroxylovaných acetyl-amino-PAH silně mutagenní, dokonce více než samotné nitroPAH [50].

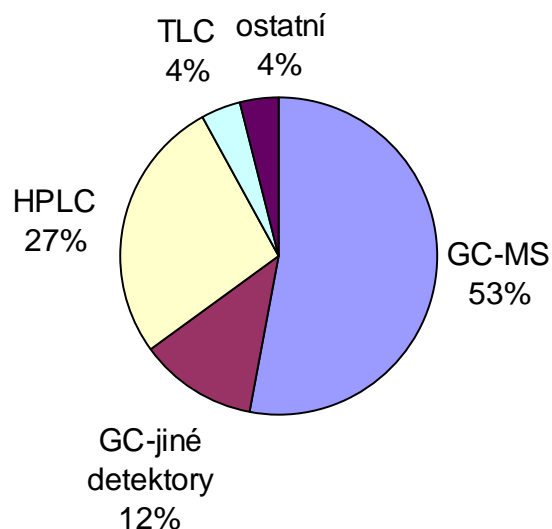
Metabolismus nitroPAH je silně ovlivněn řadou faktorů. Mezi nejdůležitější patří společný výskyt s PAH, které indukují systém cytochrom P-450 a ten pak metabolizuje nitroderiváty intenzivněji. Podobně působí i současně podaný alkohol [50]. Také stav a složení střevní mikroflóry, poloha nitroskupiny na aromatickém jádře nebo přítomnost jiné funkční skupiny význačně ovlivňuje metabolismus nitroPAH.

7 Analytické metody

Stanovení PAH v rostlinných bioindikátorech nebo ve filtrech aktivních vzorkovacích zařízení používaných běžně pro monitorování ovzduší je rutinní záležitostí. Stanovení nitroderivátů, které se ve všech matricích vyskytují v podstatně nižších koncentracích (a jsou také reaktivnější) je naproti tomu poměrně obtížné a výsledky jsou zpravidla spojeny se značnou nejistotou.

Přesto bylo pro stanovení nitroderivátů PAH v různých materiálech popsáno velké množství analytických metod, které je ale v praxi značně omezeno požadavky na dosažení extrémně nízkých mezí stanovitelnosti při eliminaci rušivých vlivů ostatních složek komplexní matrice. V rostlinných materiálech není např. stanovení nitroPAH zatím zcela uspokojivě dořešeno.

V důsledku přítomnosti polární funkční skupiny (a také vyšší molekulové hmotnosti) mají nitroPAH odlišné chromatografické vlastnosti, což se projevuje nejenom při stanovení plynovou či kapalinovou chromatografií ale zejména při přečišťování extraktů reálných vzorků. Interferující látky koextrahované z komplexních matric spolu s nitroderiváty PAH totiž zpravidla neumožňují jejich přímou, spolehlivou identifikaci (a především kvantifikaci) pomocí GC-MS bez dvoustupňového přečištění.



Obr. 15: Relativní zastoupení analytických metod používaných ke stanovení nitroPAH [35]

Vzhledem k omezené stabilitě a ultrastopovým koncentracím nitroPAH je nezbytné věnovat pozornost zejména zabezpečení správnosti analýz. Z certifikovaných referenčních materiálů je ale k dispozici pouze městský prach (NIST SRM 1650) a rovněž izotopově značené standardy jsou komerčně dostupné pouze pro velmi omezený okruh nitroPAH.

Naprostá většina metod pro stanovení nitroPAH využívá vysokorozlišovací plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (HRGC-MS/EI), méně častá je aplikace kapalinové chromatografie, nejčastěji ve spojení s fluorescenčním nebo chemiluminiscenčním detektorem. Ten lze ale pro běžné koncentrace nitroPAH použít až po redukci nitro-skupiny na fluoreskující amino-skupinu. Redukce se provádí on-line, např. pomocí Pt/Rh katalyzátoru; amino-PAH jsou ale značně nestabilní.

Pro velmi nízké hladiny nitroPAH, jaké se běžně nacházejí ve volném ovzduší nebo v terestrické vegetaci, je vždy velmi obtížné dosáhnout dostatečně nízkých mezí stanovitelnosti.

Vyšší koncentrace nitroPAH lze stanovit vysokorozlišovací plynovou chromatografií s využitím hmotnostního detektoru (HRGC/MS). Pro stanovení PAH se běžně využívá ionizace nárazem elektronů (EI) a srovnatelnou odezvu poskytují i nitroPAH. Problémem jsou zde ale až o dva řády nižší koncentrační hladiny nitroPAH oproti mateřským PAH, kdy citlivost GC/MS-EI stanovení je zpravidla naprosto nedostatečná, zejména pro analýzu plodin, potravin, vzorků stravy aj. [51].

Právě pro tyto účely byla nedávno podrobně popsána technika HRGC-MS s využitím negativní chemické ionizace (NCI) po přečištění extraktů pomocí GPC (na rigidním PL-gelu, PL Laboratories) a v druhém stupni ještě pomocí SPE (na kolonkách LiChrolut EN, Merck) [52].

Kromě zlepšené citlivosti je zde velkou předností také fakt, že mnoho interferujících látek zachycovaných jinými detektory není touto metodou vůbec detekováno. To ovšem neznamená, že relativní odezvy nitroPAH nemohou být neodstraněnými komponentami matrice výrazně ovlivněny (tzv. matričními efekty) a čištění extraktů tedy nelze vynechat. Selektivita detekce v režimu NCI je velmi vysoká, nicméně pro identifikaci analytu je k dispozici pouze molekulový ion. Za určitou praktickou nevýhodu NCI by mohl být považován fakt, že mateřské PAH nejsou touto technikou detekovány a jejich stanovení je nutno provést zvlášť v režimu EI. Na druhou stranu ale v NCI nedochází k nežádoucím interferencím mezi PAH a nitroPAH.

Meze stanovitelnosti pro rostlinný materiál a potraviny se pohybují okolo 0,1 až 1 ng/g (podle matrice a analytu), detekční limity jsou 0,02 – 0,3 ng/g.

Dobré chromatografické separace analytů se nejčastěji dosahuje na stejných kapilárních kolonách, na jakých jsou běžně separovány i mateřské PAH, tj. DB-5, HP-5, SE-54 apod. Na těchto kolonách se však nedělí např. 2-nitrofluoranthen a 3-nitrofluoranthen.

Nejistota spojená s výsledky stanovení nitroPAH v plodinách a potravinách je vzhledem k jejich reálným (ultrastopovým) koncentracím - většinou na úrovni meze stanovitelnosti - a ke komplikovaným postupům přípravy takovýchto vzorků mimořádně vysoká.

8 Závěry

1. NitroPAH jsou běžnou součástí volného ovzduší, kde jsou z větší části sorbovány na tuhé atmosférické částice (prachové frakce). V porovnání s mateřskými PAH jsou celkové koncentrační hladiny nitroPAH v ovzduší o asi 2 řády nižší.
2. Významná část nitroPAH vzniká atmosférickými reakcemi a v atmosféře tyto látky podléhají dalším reakcím. Jejich koncentrace proto silně kolísají v závislosti na atmosférických podmínkách, slunečním svitu a přítomnosti dalších látek znečišťujících ovzduší (např. NO_x, ozon aj.).
3. Relativně vysoké celkové atmosférické koncentrace nitroPAH byly nalézány zejména v lokalitách s velmi silnou dopravní zátěží (vznětové motory – nákladní automobilová doprava). V ČR se jednalo např. o zemědělské lokality v blízkosti dálnice D1 (Průhonice), a u Ostravy, popř. přímo v Teplicích.
4. O kontaminaci plodin a potravin nitroPAH je zatím poměrně málo údajů. Dostupná data ale naznačují, že tyto kontaminanty zůstávají výhradně na nechráněných povrchových částech plodin a jejich zpracováním (mytím, loupáním) se jejich podstatná část odstraní.
5. Kontaminace potravin nitroPAH vznikajících přímo při jejich zpracování (uzení, přímé sušení spalinami, grilování,...) byla dosud sledována jen ve velmi omezeném rozsahu a s rozpornými výsledky.
7. Žádný pozitivní vztah mezi kontaminací potravin PAH a koncentracemi nitroPAH nebyl prokázán. Naproti tomu ve volném ovzduší byla zjištěna korelace mezi koncentracemi naftalenu a jeho derivátů - nitronaftalenů.
8. Dietární příjem nitroPAH v ČR byl metodou dvojích porcí odhadnut na přibližně 0,04 μg 1- a 2-nitronaftalenu a 0,03 μg ostatních nitroderivátů PAH. Tyto hodnoty byly ale získány na velmi omezeném počtu dobrovolníků a při značné nejistotě analytických výsledků. Vliv druhu diety proto nebyl prokázán.
9. Současné metody vzorkování a analýzy mohou poskytovat dostatečně přesné údaje o stavu znečištění ovzduší nitroPAH, jakkoli vyžadují speciální vzorkovací techniku. Pro sledování střednědobé zátěže agrárních ekosystémů PAH a nitroPAH se osvědčilo pasivní vzorkování technikou SPMD.

10. Analýza „běžných“ ultrastopových koncentrací nitroPAH v plodinách a potravinách je obtížná a nákladná a vyžaduje speciální techniku. Publikovaná data je tedy třeba hodnotit s krajní opatrností, zejména pokud nejsou známy charakteristiky použité analytické metody.

9. Literatura

1. Wild S.R., Jones K.C., *Environmental Pollution*, 1995, **88**, 91
2. Howard J.D., Fazio T., *Anal. Chem.*, 1980, **63**, 1077
3. Blumer M., Younglood W.W., *Science*, 1975, **188**, 53
4. Il'nitsky A.P., Belitsky G.A., Shabad L.M., *Cancer Lett.*, 1976, **1**, 291
5. Fu P.P., Herreno-Saenz D., Von Tungeln L.S., Lay J.O., Wu Y.S., Lai J.S., Evans F.E., *Environ. Hlth. Perspect.*, 1994, **102**, 177
6. Schlemitz S., Pfannhauser W.: *Food Add. Contam.* 1996, **13** (8), 969
7. Zander M.: Polycyclic Aromatic and Heteroaromatic Hydrocarbons. In: *Handbook of Environmental Chemistry*, Hutzinger, O., ed., Vol. 3, Springer, Berlin, Heidelberg, 1980
8. Atkinson R., *J. Phys. Chem. Ref. Data*, Monograph 1994, **2**
9. Greadel T.E., Weschler C.J., *Rev. Geophys. Space Phys.*, 1981, **19**, 505
10. Schroeder W.H., Lane D.A., *Environ. Sci. Technol.*, 1988, **22**, 240
11. Kamens R.M., Guo Z., Fulcher J.N., Bell D.A., *Environ. Sci. Technol.*, 1988, **22**, 103
12. Dunstan T.D.J., Mualdin R.F., Jinxian Z., Hipps A.D., Wehry E.L., Mamantov G., *Environ. Sci. Technol.*, 1989, **23**, 303
13. McDow S.R., Sun Q., Vartiainen M., Hong Y., Yao Y., Fisher T., Yao R., Kamens R.M., *Environ. Sci. Technol.*, 1994, **28**, 2147
14. Odum J.R., McDow S.R., Kamens R.M., *Environ. Sci. Technol.*, 1994, **28**, 1285
15. Librando V., Fazzino S. D.: *Chemosphere*, 1993, **27** (9), 1694
16. Holoubek I., *Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) v prostředí*, Brno, Masarykova univerzita, ISBN 80-85087-44-8, Brno, 1996.
17. Richardson M. L., Gangoli S., *The dictionary of Substances and Their Effects*, The Royal Society of Chemistry, 1994.
18. Ciccioli P., Cecinato A., Cabella R., Brancaleoni E., Buttini P., *Atmos. Environ.*, 1993, **27A**, 1261,.
19. Ciccioli P., Cecinato A., Brancaleoni E., Frattoni M., Zacchei P., De Castro Vasconcellos P., *Annali di Chimica*, 1995, **85**, 455
20. Peters A.J., Gregor D.J., Teixeira C.F., Jones N.P., Spencer C., *The Science of the Total Environment*, 1995, **167**, 160/161
21. Wild S.R., Jones K.C., *Environmental Pollution*, 1995, **88**, 91
22. Marino F., Cecinato A., Siskos P. A.: *Chemosphere*, 2000, **40**, 533

23. Feilberg, A., Poulsen, M.W., Nielsen, T., Henrik, S., *Atmospheric Environment* 2001, **35**, 353
24. Bamford H.A., Baker J.E., *Atmospheric Environment*, 2003, **37**, 2077
25. Bamford H. A., Baker J.E.: *Atmospheric Environment* 2003, **37**, 2077
26. Leníček J., Sekyra M., Bednářková K., Beneš I., Šípek F., *Ochrana ovzduší*, 2000, **1**, 8
27. Muck A. et al., *J.Hazardous Materials*, 2002, **B95**, 175
28. Hodnocení stavu životního prostředí: monitoring cizorodých látek v potravních řetězcích. Technická zpráva z projektu MŽP ČR č. MR/14/95, VŠCHT Praha, 2001
29. Phillips D. H.: *Mutation Research*, 1999, **443**, 139
30. Ziegler W., Peñalver L. G., Preiss U., Wallnöfer P. R.: *Adv. Food Sci.*, 1999, **21**, 54
31. Sekyra M., Leníček J., Bednářková K., Beneš I.: *Chem. Listy*, 2000, **94**, 924
32. Dimashki M., Harrad S., Harrison R. M.: *Atmospheric Environment*, 2000, **34**, 2459
33. Jinhui X., Lee F. S. C.: *Analytica Chimica Acta*, 2000, **416**, 111
34. Jinhui X., Lee F. S. C.: *Chemosphere*, 2001, **42**, 245
35. Barek J., Cvačka J., Costa J., Zima J.: *Chem. Listy*, 1996, **90**, 805
36. Marino F., Cecinato A., Siskos P. A.: *Chemosphere*, 2000, **40**, 533
37. Sturaro A., Parvoli G., Doretti L.: *J. Chromatogr.*, 1993, **643**, 435
38. Schilhabel J., Levsen K.: *Anal. Chem.*, 1989, **333**, 800
39. Tejada S. B., Zweidinger R. B., Sigsby J. E.: *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 1827
40. Douce D. S., Clench M. R., Cooke M., Wang J.: *J. Chromatogr.*, 1997, **A786**, 275
41. Tolls J., McLachan M. S.: *Environ. Sci. Technol.*, 1994, **28**, 159
42. McLachan M. S., Welsch-Pausch K., Tolls J.: *Environ. Sci. Technol.*, 1995, **29**, 1998
43. Bidleman T. F.: *Environ. Sci. Technol.*, 1988, **22**(4), 361
44. Peterson S., Mackay D., Bacci E., Calamari D.: *Environ. Sci. Technol.*, 1991, **25**(5),
45. Simonich S. L., Hites R. A.: *Environ. Sci. Technol.*, 1994, **28**, 939
46. Müller J. F., Hawker D. W., Connell D. W.: *Chemosphere*, 1994, **29**(4), 623
47. Van Haeringen C.J., Cornelisse J., Lugtenburg J., Wiercky F.C.J., Timmersreker J.M., Mulder G.J., Meerman J.H.N., In: Thirteenth International Symposium on Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. Bordeaux, Gordon and Breach Science Publishers, 1991.
48. Jacob J., Karcher W., Belliaro J.J., Boenke A.: *Fressenius J. Anal. Chem.* 1991, **349**, 775
49. Richardson K.E., Fu P.P., Cerniglia C.E., *J. Toxicol. Enviro. Hlth.*, 1998, **23**, 527
50. Moller L., *Environ. Hlth. Perspect.*, 1994, **102**, 139
51. Siegmund B., Weiss R., Pfannhauser W.: *Anal. Bioanal Chem.* 2003, **375**, 175
52. Dušek B., Hajšlová J., Kocourek V.: *J. Chromatogr.* 2002, **A 982**, 127